



Camila Delsin

Mel: caracterização de processos e desenvolvimento de uma nova formulação de Melosa

Orientador: Goreti Botelho

Coorientador: Ivo Rodrigues

Coimbra, 2018



Camila Delsin

Mel: caracterização de processos e desenvolvimento de uma nova formulação de Melosa

Dissertação apresentada à Escola
Superior Agrária de Coimbra para
cumprimento dos requisitos necessários
à obtenção do grau de mestre.

Orientador: Goreti Botelho

Coorientador: Ivo Rodrigues

Coimbra, 2018

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer a minha orientadora de tese Goreti Botelho da Escola Superior Agraria de Coimbra do Politécnico de Coimbra. A porta do gabinete da Professora Botelho esteve sempre aberta quando eu me deparava com alguma dúvida ou obstáculo. Ela me acompanhou em todo o trabalho, me guiando na direção certa sempre que ela achava necessário.

Eu também gostaria de agradecer ao Professor Ivo Rodrigues da Escola Superior Agraria de Coimbra do Politécnico de Coimbra como coorientador desta tese, e sou grata a ele por seus comentários muito valiosos nesta tese.

Eu também gostaria de agradecer aos especialistas que estiveram envolvidos para que grande parte desse estudo fosse possível: Dr. Jorge Periquito, Presidente da Frubaça – Cooperativa de Hortofruticultores, srl. E à Engenheira Carla Raimundo do Departamento de Controlo de Qualidade que contribuíram em toda parte prática da aplicação de altas pressões nas amostras. Sem suas participações, o estudo não poderia ter sido realizado com sucesso. E ao Sr. José Manuel Duarte que me forneceu toda a matéria prima principal em estudo.

Finalmente, devo expressar minha profunda gratidão aos meus pais e ao meu noivo por me fornecer um apoio infalível e encorajamento contínuo ao longo dos meus anos de estudo e pelo processo de pesquisar e escrever esta tese. Essa conquista não teria sido possível sem eles. Obrigado.

Resumo

A cristalização do mel é um processo natural e que ocorre em todo o tipo de mel, mesmo que não perceptível a olho nú, essa variação depende de diversos fatores intrínsecos e extrínsecos, como a temperatura do meio, tempo de maturação, quantidade de açúcares e água presente no mel, entre outros. Com este estudo propõe-se observar a influência da aplicação de um processo não térmico no mel, de forma a evitar ou retardar o processo de cristalização. Trata-se da aplicação de altas pressões no mel para verificar a influência de um processo físico na cristalização de mel cru. Foram submetidas 3 amostras de 3 méis de diferentes origens florais a 3 diferentes binómios de tempo e pressão. A escolha do tempo e pressão aplicada nas amostras foram determinadas pelo Dr. Jorge Periquito e a Engenheira Carla Raimundo da empresa Frubaça, que mediante a viabilidade económica do processo, decidiram colocar as amostras de méis nas pressões e tempos praticados nos sumos naturais produzidos pela empresa, submetidos a altas pressões para a inativação microbiana nos mesmos. A técnica de análise das amostras foi utilizada mediante a estudos anteriores com o mesmo objetivo de avaliar a cristalização do mel, utilizando a atividade da água e o índice de brancura, calculado com base nos valores de L^* , a^* e b^* medidos. Embora os resultados não tenham sido conclusivos, uma pequena alteração nas técnicas de análise e um prolongamento do estudo, poderia mostrar resultados mais claros sobre o efeito da pressão nas amostras de mel. É imprescindível alterar a preparação inicial das amostras, para cada pressão aplicada utilizou-se uma embalagem para cada tipo de mel, que posteriormente foi dividido em outras embalagens para cada temperatura de armazenamento, onde eram retiradas dos locais de armazenamento e abertas a cada análise realizada, isso provoca alteração no meio envolvente das amostras, podendo ter comprometido os resultados. A divisão das amostras em embalagens fechadas para cada dia de análise e para cada parâmetro estudado seria ideal, se realizada antes do processo de altas pressões.

Atualmente, devido o elevado valor comercial do mel, a produção nacional abrangem grande fatia da economia de diversas famílias em Portugal. E como quase todo produto alimentar, sua produção gera coprodutos muito valorizados e um subproduto em grande quantidade, muitas vezes descartado, chamada de água-mel. Com base nesse conhecimento sugeriu-se a elaboração de aguardente de mel com a água-mel produzida a partir da limpeza das ceras, que possui alta concentração de açúcar e pólen residuais. Dessa forma, colocou diferentes concentrações de água e mel em recipientes para fermentação, alterando as concentrações de leveduras e nutrientes para avaliar a proporção com maior rentabilidade. O produto obtido foi utilizado para elaboração de um licor regional chamado Melosa. O mesmo produto foi elaborado com diferentes aguardentes (vínica e álcool alimentar) para verificar se a alteração do álcool adicionado era perceptível pelo consumidor. Analisando os resultados a partir do teste de Friedman, determinou-se que a utilização de aguardente de mel pode ser uma

alternativa para rentabilizar o custo de produção da melosa, acrescentando valor para um subproduto muitas vezes desperdiçado.

Palavras-chave: Mel; Água-mel; processo de altas pressões; aguardente de mel; cristalização.

Índice

Agradecimentos.....	III
Resumo.....	IV
1. Introdução.....	2
1.1. Mel.....	3
1.1.1. Definição.....	3
1.1.2. Tipos de mel.....	4
1.1.3. Composição e propriedades físico-químicas.....	6
1.1.4. Sistema de produção.....	8
1.1.4.1. Extração.....	9
1.1.4.2. Filtração.....	10
1.1.4.3. Aquecimento.....	10
1.1.4.4. Arrefecimento.....	11
1.1.4.5. Embalamento.....	11
1.1.5. Cristalização do mel.....	11
1.1.5.1. Fatores que influenciam a cristalização.....	12
1.1.5.2. Fatores que impedem/revertem o processo de cristalização.....	13
1.1.6. Uso alternativo do mel.....	13
1.2. Água-mel.....	13
1.3. Aguardente de mel.....	14
1.3.1. Produção de aguardente.....	14
1.3.1.1. Fermentação alcoólica.....	14
1.3.1.2. Destilação.....	16
1.4. Licores.....	17
1.4.1. Classificação dos Licores.....	17
1.4.2. Produção de licores.....	18
1.4.3. Melosa.....	18
1.5. Análise Sensorial.....	19
1.5.1. Propriedades Sensoriais.....	19
1.5.1.1. Cor.....	19
1.5.1.2. Odor.....	20

1.5.1.3.	Sabor	20
1.5.2.	Preparação e apresentação das amostras	20
1.5.3.	Teste de Ordenação Simples	21
1.5.3.1.	Análise dos resultados.....	22
1.5.3.2.	Comparação das amostras usando o teste de Friedman.....	22
1.5.3.3.	Comparação de duas amostras individuais após o método de Friedman ...	23
1.6.	Processo de altas pressões em alimentos	26
1.6.1.	Descrição do processo	26
1.6.2.	Embalagem	27
1.6.3.	Efeito do HPP sobre os compostos alimentares.....	27
1.6.4.	Efeito do HPP sobre os microrganismos	28
1.7.	Referências Bibliográficas	28
2.	Avaliação da cristalização de méis submetidos ao processo de altas pressões 35	
2.1.	Introdução.....	35
2.2.	Materiais e Métodos.....	36
2.2.1.	Amostras e Embalagem	36
2.2.2.	Equipamento de processamento de alta pressão.....	37
2.2.3.	Metodologia	37
2.2.4.	Atividade da água	38
2.2.5.	Cor.....	38
2.3.	Resultado e Discussão.....	40
2.4.	Conclusão.....	49
2.5.	Referências Bibliográficas	51
3.	Produção de Melosa: efeito das condições de fermentação da aguardente de mel utilizado	53
3.1.	Introdução.....	53
3.1.1.	Mel e seus subprodutos	53
3.1.2.	Aguardente de mel	53
3.1.3.	Melosa	54
3.2.	Material e Métodos	54
3.2.1.	Fermentação.....	54
3.2.1.1.	Determinação dos parâmetros físico-químicos dos fermentados.....	56
3.2.2.	Destilação	57

3.2.3. Produção do licor Melosa	57
3.3. Resultados e discussão	57
3.3.1. Controlo analítico da fermentação	57
3.3.2. Destilação	58
3.3.3. Licor Melosa.....	61
3.3.3.1. Análise Sensorial	61
3.4. Conclusão	62
3.5. Referência Bibliográfica	62

ANEXOS

Anexo I.....	58
Anexo II.....	61

Índice de Figuras

Figura 1 - Flores de rosmaninho	5
Figura 2 – Laranjeira	6
Figura 3 - Processamento de mel convencional.....	9
Figura 4 - Comparação de Resultados	25
Figura 5 - Comparação de Resultados	25
Figura 6 - Sistema de Altas Pressões Hidrostáticas.	27
Figura 7 - Embalagens de mel submetidas á altas pressões	37
Figura 8 - Resultados das análises do Mel multifloral referente a aW e o IB.	40
Figura 9 - Resultados das análises do mel multifloral armazenado a temperatura ambiente (21°C) referente a aW e o IB.....	41
Figura 10 - Resultados das análises do Mel multifloral referente a aW e o IB.	42
Figura 11 - Resultados das análises do mel de laranjeira armazenado a 11°C referente a aW e o IB.....	Erro! Marcador não definido.
Figura 12 - Resultados das análises do mel de laranjeira armazenado a temperatura ambiente (21°C) referente a aW e o IB.	5644
Figura 1 - Resultados das análises do mel de laranjeira armazenado a 30°C referente a aW e o IB.....	45
Figura 2 - Resultados das análises do mel de rosmaninho armazenado a 11°C referente a aW e o IB.....	46

Figura 3 - Resultados das análises do mel de rosmaninho armazenado a temperatura ambiente (21°C) referente a aW e o IB.....	47
Figura 4 - Resultados das análises do mel de rosmaninho armazenado a 30°C referente a aW e o IB.....	48
Figura 5 - Mel cristalizado.....	49
Figura 6 - Fermentadores onde decorreram as fermentações à escala laboratorial.....	56

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Limites mínimos e máximos estabelecidos para o mel de néctar e de melada	7
Tabela 2 - Valores Críticos para a análise de variância por número de ordem de Friedman.	23
Tabela 3 - Área compreendida pela curva normal reduzida, $N(0;1)$, de 0 a z.....	24
Tabela 4 - Codificação das amostras de mel.	Erro! Marcador não definido.
Tabela 5 - Catalogação e indexação das amostras.....	38
Tabela 6 - Catalogação e indexação dos fermentadores	55
Tabela 7 - Resultado da fermentação alcoólica	58
Tabela 8 - Resultado da destilação	59
Tabela 9 - Resultados das análises da aguardente de mel.....	60

Índice de Equações

<i>Equação 1</i>	22
<i>Equação 2</i>	23
<i>Equação 3</i>	23
<i>Equação 4</i>	24
<i>Equação 5</i>	39

Lista de Abreviaturas e Símbolos

a*	Vermelho (+)/verde (-)
AP	Álcool puro
a _w	Atividade da água
b*	Amarelo (+)/azul (-)
c*	Saturação (Croma)
CIELAB	Sistema Lab Color
CO ₂	Dióxido de carbono
Fr	Valor de Friedman
HMF	Hidroximetilfurfural
HPP	High Pressure Processing
k	Número de amostras da análise sensorial
L*	Luminosidade
meq/kg	Miliequivalente por quilograma
mg/kg	Miligramas por quilograma
Min	Minuto
mL	Mililitro
MPa	Mega pascal
N	Número de provadores da análise sensorial
R _j	Representa a soma das ordens para o produto na análise sensorial
s	Segundos
TA	Temperatura ambiente
TAV	Título alcoométrico volúmico

CAPÍTULO I

Introdução

1. Introdução

O presente relatório foi realizado no âmbito do estágio profissionalizante do mestrado em Engenharia Alimentar na Escola Superior Agrária de Coimbra no período entre Março e Agosto de 2018, que teve o mel como foco principal em estudo, sendo um produto natural, que acompanha a humanidade desde há uns 8.000 anos. Atualmente é ainda muito consumido sendo utilizado na indústria alimentar, farmacêutica e cosmética (Nascimento, 2013).

Sendo o mel composto principalmente de açúcares, a glucose e a frutose, são os principais compostos orgânicos responsáveis pela sua cristalização. A cristalização varia segundo diversos fatores, como a concentração de açúcares, o teor de água na sua composição natural, a procedência floral do néctar, o manuseio durante seu processamento, bem como as condições de estocagem (Kuroishi *et al.*, 2012).

Em termos de apelo ao consumidor, o mel cristalizado é geralmente considerado inaceitável. O consumidor acredita que a cristalização do mel está relacionada a sua falta de pureza. Quando a cristalização é incompleta, a camada de cristais é coberta por uma camada de líquido com um teor de água superior ao do mel original que pode criar um ambiente favorável ao crescimento de leveduras e pode levar à fermentação do mel. Devidos a esses fatores, geralmente o mel embalado passa por processos térmicos para voltar ao seu estado não cristalizado, facilitando o seu manuseio e tornando-se mais apelativo ao consumidor. O mel é conhecido por ser um edulcorante com inúmeras propriedades antioxidantes e antimicrobianas. No entanto essas valiosas propriedades são comprometidas quando o mel é submetido a processos térmicos, reduzindo assim a sua qualidade final (Fauzi *et al.*, 2014). Como tal, um dos objetivos do presente trabalho é avaliar o efeito do processamento por altas pressões na cristalização do mel.

A primeira cultura que mostra o uso de colmeias artificiais para a produção de mel foi a egípcia, há cerca de 5.000 anos (Pajuelo, 2004). Atualmente o mel é consumido em grande escala em todo o mundo, desempenhando um papel importante na dieta humana, sendo muito utilizado na indústria alimentar, farmacêutica e cosmética. Desta forma, a produção e a comercialização de mel tornou-se uma atividade económica bastante relevante ao nível da agricultura portuguesa, existem atualmente em Portugal cerca de 11 mil apicultores registados, que correspondem a aproximadamente 33 mil apiários e 626 mil colmeias (Ministério da Agricultura Floresta e do Desenvolvimento Rural, 2016).

Dados do Instituto Nacional de Estatística (INE, 2016) mostram que em 2016 foram produzidas na ordem das 14 mil toneladas de mel em Portugal. Assim como diversos produtos, a sua fabricação gera coprodutos, tais como, pólen apícola, geleia real, apitoxina e cera. E um subproduto chamado de água-mel, muitas vezes descartada, que pode ser de grande valor económico.

As ceras, após a extração do mel, que contêm ainda restos de mel, própolis e pólen, são sujeitas a uma lavagem com água quente para dissolução daqueles produtos. A água

resultante é em seguida sujeita a um tratamento térmico durante horas, até se obter um produto final de cor castanha escura. A este subproduto da produção de mel, em Portugal, dá-se o nome de água-mel. A água-mel pode ser usada para molhar o pão ou na confeção de bolos, ou ainda, numa versão mais “gourmet”, como tempero de saladas. Muito recentemente, sem muito controlo ou estudo, surgiu a utilização dessa água-mel para fabricação de aguardente (Miguel *et al.*, 2013). Desse modo, é essencial rentabilizar o seu processo de produção, analisando e encontrando soluções para que a produção seja possível, e o produto final possua qualidade, viabilizando a utilização desta aguardente no fabrico de licores artesanais.

Nesse sentido, o presente trabalho teve também como objetivo dar um contributo para o controlo da fermentação de água-mel, pretendendo-se avaliar quais as condições ótimas do processo. Por fim, o fermentador com maior rentabilidade e com a aguardente de melhor qualidade, suportada num conjunto de análises específicas passíveis de a caracterizar, foi produzida Melosa (um licor à base de mel, tradicional da região do Algarve) que foi submetida a análise sensorial.

1.1. Mel

1.1.1. Definição

Segundo o Decreto de Lei nº 214/2003 de 18 de Setembro, o mel é designado como uma *“substância natural açucarada, produzida pelas abelhas da espécie Apis mellifera, a partir do néctar de plantas ou das secreções provenientes de partes vivas das plantas, que as abelhas recolhem, transformam por combinação com substâncias específicas próprias, depositam, desidratam, armazenam e deixam amadurecer nos favos da colmeia”*.

As abelhas *Apis mellifera* L. recolhem o néctar e melada das plantas e transportam-no por meio do seu saco de mel até à sua colmeia. Quando uma abelha operária bebe o néctar das flores, um máximo de 25 mg de néctar é armazenado no fundo do seu esófago, numa região chamada de estômago mel ou saco de mel. No caminho, o organismo das abelhas adiciona enzimas das duas glândulas, salivar e hipofaríngea, transformam o néctar e preenchem os favos de mel. Durante este processo, as abelhas ventitam com suas asas, diminuindo assim a humidade do mel, e

quando o conteúdo de água chega a 30-40%, o mel é colocado nos favos. A temperatura quente das colmeias (35 °C), e a ventilação, reduz ainda mais a humidade do mel. Outras abelhas ainda sugam o mel e depositam-no novamente nos favos, para diminuir ainda mais o teor de água. Este processo de transformação ocorre em 1 a 3 dias. Geralmente, quando o mel maduro tem humidade inferior a 20%, as abelhas fecham os favos, evitando assim a absorção de humidade. Apenas raramente, sob condições muito húmidas ou tropicais, o mel com mais de 20% pode ser coberto pelas abelhas. O recomendado é que o apicultor recolha o mel com menos de 18 % de humidade (Fuentes, 2012).

1.1.2. Tipos de mel

O Decreto de Lei nº 214/2003 ainda estabelece os principais tipos de mel com base na origem, modo de produção e apresentação. Assim, tem-se:

a) Consoante a origem:

- i) Mel de néctar ou mel de flores — mel obtido a partir do néctar das plantas;
- ii) Mel de melada — mel obtido principalmente a partir de excreções de insetos sugadores de plantas (hemíptera) que ficam sobre as partes vivas das plantas ou de secreções provenientes de partes vivas das plantas.

b) Consoante o modo de produção e/ou de apresentação:

- iii) Mel em favos — mel armazenado pelas abelhas nos alvéolos operculados de favos, que pode ser vendido em favos inteiros ou em secções de favos;
- iv) Mel com pedaços de favos — mel que contém um ou vários pedaços de mel em favos;
- v) Mel escorrido — mel obtido por escorrimento de favos desoperculados que não contenham criação;
- vi) Mel centrifugado — mel obtido por centrifugação de favos desoperculados que não contenham criação;
- vii) Mel prensado — mel obtido por compressão de favos que não contenham criação, sem aquecimento ou com aquecimento moderado de 45°C, no máximo;
- viii) Mel filtrado — mel obtido por um processo de eliminação de matérias orgânicas ou inorgânicas estranhas à sua composição que retire uma parte importante do pólen.

Atualmente existe uma enorme tendência em diferenciar méis de diferentes origens florais, a fim de obter um padrão de qualidade e autenticidade que permita diferenciar este produto no mercado. Na Europa, levou-se à introdução de vários regulamentos oficiais para produtos agrícolas, como as denominações de origem protegida (DOP),

indicação geográfica protegida (IGP) e especialidade tradicional garantida (ETG), que permitem que certos produtos sejam rotulados com os nomes das suas áreas geográficas de produção (Fuentes, 2012).

O mel pode ser proveniente de uma fonte floral (monofloral) ou várias (multifloral). De uma forma geral, considera-se monofloral se pelo menos 45% do pólen for de uma determinada origem. Isso é possível a partir da análise de pólen que também pode fornecer informações importantes sobre a extração e a filtração do mel, fermentação, alguns tipos de adulteração e aspetos higiénicos, como contaminação com pó, mineral fuligem ou grãos de amido. No entanto, este método de análise do pólen é demorado, requer conhecimento especializado e perícia, e envolve um processo de contagem moroso, com a interpretação dos resultados e uma identificação de origem botânica bastante difíceis. No entanto, a prática dos apicultores pode garantir a origem floral do mel produzido, ou grande parte dela (Louveaux *et al.*, 1978).

Existe por isso uma enorme variedade de méis sendo os utilizados no presente trabalho:

Mel de Rosmaninho (*Lavandula stoechas*)



Figura 7 - Flores de rosmaninho.
Fonte: (FNAP, 2017)

Este mel apresenta uma cor muito clara, sendo que as cores mais escuras aparecem quando a sua floração se mistura com a das estevas (*Helianthemum-Cistus* ssp). O seu aroma é pouco intenso, com traços florais. Quando apresenta muita soagem aparecem notas aromáticas de azeite e gorduras (Pajuelo, 2004).

Encontra-se espalhado por toda a região interior norte, como podemos ver na figura 1, centro e pelo sul de Portugal, a uma altitude aproximada de 400 metros (FNAP, 2017).

Mel de Laranjeira (*Citrus sinensis*)



Figura 8 – Flores de laranjeira.

Fonte: ("Fleur Chérie - L'OCCITANE - Sol de Primavera," 2013)

Este mel é uma colheita monofloral bastante segura: as colmeias chegam a ela desenvolvidas por floração anteriores (rabanizas, alecrim, amendoeira, entre outras). Existem em Portugal grandes extensões de cultivo de floração única, a planta é cuidada, e a meteorologia das zonas de cultivo está assente na Primavera (Abril-Maio). O mel de laranjeira é obtido do néctar da flor de laranjeira (figura 2). Possui uma cor clara e seu aroma é característico, muito singular, devido à presença de uma substância aromática específica, o antranilato de metilo. O gosto é claramente diferente do resto dos méis claros, devido à sua acidez evidente muito marcada na flor de laranjeira. A cristalização dos méis de laranjeira parece não ser muito rápida e em cristal fino (Barbosa, 2012).

Mel Multifloral

Durante a primavera, as abelhas produzem o mel a partir do pólen recolhido nas flores em redor da colmeia, que irá determinar o seu aroma. Em Portugal o mel multifloral possui características variadas em cada região do país. A composição e característica de cada tipo de mel é influenciada por fatores bióticos e abióticos de onde se situam as colmeias, como a densidade e o tipo de flora, clima, solo e outros (Alqarni *et al.*, 2014).

São ainda conhecidos uma enorme variedade de méis e em Portugal são produzidos méis de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Medronheiro (*Arbutus unedo*), Soagem (*Echium plantagineum*), Poejo (*Mentha pulegium*), Cardo (*Carlina racemosa*), Eucalipto (*Eucalyptus* spp), Girassol (*Helianthus annuus*), Castanheiro (*Castanea sativa*) e Urze (*Erica* spp). Grande parte das variedades monoflorais estão presentes também no mel multifloral (Barbosa, 2012).

1.1.3. Composição e propriedades físico-químicas

O mel é um produto natural muito apreciado, sendo uma das formas concentrada de açúcar disponível no mundo inteiro (Krell, 1996).

Quando se trabalha com mel é comum encontrar variação na sua composição, sendo no geral os monossacarídeos, frutose e glucose, os mais abundantes, constituindo cerca de 80 a 85% dos sólidos no mel. Também possuem, em quantidades menos

representativas, dissacarídeos (maltose e sacarose) e oligossacáridos (Zamora *et al.*, 2006). Outras substâncias estão também presentes em pequenas quantidades, tais como, sais minerais, proteínas, vitaminas, ácidos orgânicos, flavonoides, ácidos fenólicos, enzimas e outros fitoquímicos (Suarez *et al.*, 2010).

Trata-se de um alimento muito completo mas a sua importância em relação à nutrição baseia-se nos múltiplos efeitos fisiológicos, como controlo de açúcar no sangue, diminuição do colesterol LDL e aumento do colesterol HDL, contém substâncias com ação antibacteriana, antiviral e antifúngica (Bogdanov *et al.*, 2008). Outros fitonutrientes encontrados no mel e no própolis mostram propriedades antitumorais e preventivas de cancro (Benefits *et al.*, 2013).

A qualidade do mel é principalmente determinada pelas características sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas. Os critérios de qualidade físico-química do mel encontram-se bem definidos na Directiva CE nº 2001/110 de 20 de Dezembro 2001, e também podem ser delimitados pela prática comercial.

Tabela 1 - Limites mínimos e máximos estabelecidos para o mel de néctar e de melada
 Fonte: Adaptado de Alimentarius, 2003.

Parâmetro	Mel de néctar
Teor de açúcares (frutose e glucose)	≥ 60 g/100 g
Teor de sacarose	Em geral ≤ 5 g/100 g <i>Citrus spp.</i> ≤ 10g/100g; <i>Lavandula spp.</i> ≤ 15 g/100 g
Teor de água	Em geral ≤ 20%
Teor de matérias insolúveis na água	Em geral ≤ 0,1 g/100g
Condutividade elétrica	Em geral no ≤ 0,8 mS
Ácidos livres	Em geral ≤ 50 meq/kg Mel para uso industrial ≤ 80 meq/kg
Índice diastásico e teor de hidroximetilfurfural (HMF), determinados após tratamento e mistura	
Índice diastásico (escala de Schade)	Em geral ≥ 8 Méis com baixo teor natural de enzimas, [3, 15] mg/kg
Hidroximetilfurfural (HMF)	Em geral ≤ 40mg/kg Mel de origem de clima tropical ≤ 80mg/kg

O mel de melda difere-se apenas no teor de açúcares (frutose e glucose) no mel sendo permitido por legislação um teor de ≥ 45 g/100 g.

A atividade diastásica e o hidroximetilfurfural (HMF) são frequentemente utilizados para avaliar a frescura do mel. Estão relacionados com tempo de armazenamento e/ou aquecimento excessivo do mel (Gomes, 2009).

A atividade diastásica diminui no mel envelhecido ou sujeito a aquecimento descontrolado. Ela está estritamente relacionada com a sua estrutura, por isso, elevadas temperaturas vão provocar a desnaturação da enzima, destruindo-a. O HMF é formado no mel, assim como em outros alimentos, pela desidratação das hexoses em meio ácido ou pelas reações de Maillard, em que a presença de açúcares simples e água, em meio ácido, fornece condições favoráveis à sua formação (Bogdanov *et al.*, 2008). Um mel de elevada qualidade deverá ter um teor de HMF baixo e um índice diastásico elevado (Tosi *et al.*, 2008).

O pH do mel pode variar entre 3,4 e 6,1, sendo a média de 3,9. A sua cor varia entre quase incolor a castanho-escuro (Codex Alimentarius Commission, 2001). Isso depende de sua origem floral, processamento, armazenamento, fatores climáticos e a temperatura à qual o mel amadurece na colmeia. Além disso, quanto mais escuro for o mel, mais rico será em minerais. Contudo, geralmente este é mais desvalorizado economicamente, uma vez que os méis claros são mais aceitos no mercado mundial (Gomes, 2010).

1.1.4. Sistema de produção

O mel quando extraído dos quadros da cera, pode arrastar também pólen, cera de abelha e outros materiais indesejáveis, além de levedura, que devem ser removidos para obter melhor qualidade do produto e um maior prazo de validade. Por isso, o mel é processado antes de ser embalado. O tipo de equipamento utilizado e as etapas seguidas no processamento dependem da escala de operação (Subramanian *et al.*, 2007).

A extração do mel pode ser realizada a partir de três tipos diferentes de processos de produção e de acordo com eles o mel é designado por (Bogdanov, 2010):

- Mel centrifugado: é obtido por centrifugação dos quadros. Esse é o processo realizado na maior parte do mel que é comercializado na maioria dos países do mundo.
- Mel prensado: O mel é pressionado para extrair o mel da cera.
- Mel escorrido: é obtido através da drenagem dos quadros.

O fluxograma geral do processamento de mel é apresentado na Figura 3. A separação física da matéria suspensa indesejável é feita antes do processamento térmico do mel (Subramanian *et al.*, 2007).

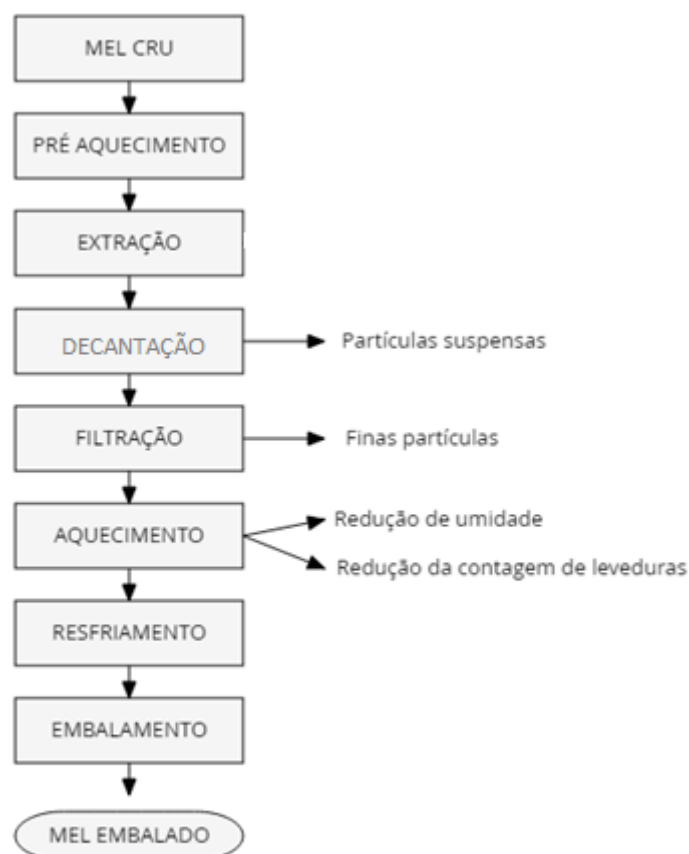


Figura 9 - Processamento de mel convencional.
Fonte: Adaptado de Subramanian et al., 2007.

1.1.4.1. Extração

Primeiro os favos devem ser desoperculados antes de irem para a extração, ou seja, retirar a camada superficial de cera criada pelas abelhas para fechar os favos. Dependendo do tamanho e da produção da melaria, a desoperculação pode ser realizada de forma manual, que se faz com faca e garfo. Existe uma faca adaptada para desoperculação que é aquecida eletricamente, o que ajuda a cortar a cera. Ou mecânica, em equipamentos de grande escala que já venham incorporados com desoperculadores aquecidos. O processo de extração do mel dos favos geralmente é feito por centrifugação, em centrífugas de aço inoxidável, onde os quadros repletos de mel, depois de desoperculados são fixados em suportes radiais ligados a um eixo central. A força centrípeta faz com que o mel se desprenda dos favos, sendo lançado contra a parede do extrator, de onde escorre por gravidade até a parte inferior do equipamento de onde é canalizado para filtração (Inácio et al., 2003).

1.1.4.2. Filtração

O mel posteriormente é filtrado usando filtros de pressão. Normalmente, um microfiltro de polipropileno de 80 µm é usado como meio filtrante. A temperatura do mel é mantida entre 50 e 55 °C, o que impede o derretimento da cera de abelha (Subramanian *et al.*, 2007).

Processadores de grande escala submetem o mel à filtração centrífuga. Existem diferentes tipos de filtros e diversas malhas de filtragem. Recomenda-se, na primeira filtragem, malhas de diâmetros maiores, diminuindo-se o diâmetro da peneira ao longo das etapas de filtração. Não se recomenda o uso de malhas muito finas, que retirem totalmente os grãos de pólen existentes no mel. Mesmo após a filtração é recomendada a decantação que consiste na retirada de sujidade do produto. Como o mel tem alta densidade, as sujidades irão acumular-se na parte superior dos recipientes de armazenamento. Como eles dispõem de válvulas de escoamento na parte inferior, pode-se retirar facilmente o mel sem essas impurezas (Inácio *et al.*, 2003).

1.1.4.3. Aquecimento

O mel geralmente contém leveduras osmófilas (tolerante ao açúcar) em quantidades variáveis e fermenta se o teor de humidade for alto o suficiente e a temperatura de armazenamento for favorável. O mel não processado tende a fermentar dentro de alguns dias de armazenamento à temperatura ambiente devido ao seu alto teor de humidade e contagem de leveduras. Para evitar essa fermentação e facilitar o manuseio, o mel é processado antes do armazenamento. O tratamento térmico no mel elimina os microrganismos responsáveis pela deterioração e reduz o teor de humidade a um nível que retarda o processo de fermentação, reduz a viscosidade e decompõe os cristais (Subramanian *et al.*, 2007).

O aquecimento é um método comum para controlar a cristalização. Ajuda a derreter os cristais invisíveis presentes no mel. Depois de derreter todos os cristais e núcleos, até mesmo o mel mais cristalizável pode permanecer líquido por muitos meses. A presença de bolhas de ar nos recipientes de embalagem pode provocar a nucleação e a cristalização do mel. O enchimento a temperaturas mais altas elimina as bolhas de ar e evita a incorporação de ar durante o enchimento devido à baixa viscosidade. O teor inicial de HMF varia drasticamente em diferentes tipos de mel, dependendo das condições climáticas da região, além de outros fatores. Quantidade excessiva de HMF tem sido considerada evidência de superaquecimento, implicando em um escurecimento da cor e uma perda de frescura do mel (Subramanian *et al.*, 2007).

Tosi *et al.* (2002) relataram que durante o processamento térmico, a combinação tempo-temperatura é crucial para manter o teor de HMF abaixo do máximo permitido pela legislação (≤ 40 mg / kg).

Diversos estudos mostraram que o aquecimento com temperaturas moderadas (60-65 °C) durante 25-30 minutos afeta moderadamente o HMF e a atividade diastásica do mel. Os efeitos do calor são cumulativos, assim, os efeitos do processamento e armazenamento do mel são frequentemente considerados juntos (Wang *et al.*, 2004).

De acordo com Crane (1987), a cada 10 °C extra aplicado ao mel aumenta em 4-5 vezes a produção do HMF.

Liebl (1976) propôs um método melhorado para prevenir a cristalização, expondo o mel a ondas de ultrassom de alta frequência (18 kHz) que drasticamente reduziu o tempo de liquefação para menos de 30 segundos. Este processo patenteado foi projetado para trabalhar a uma temperatura de processamento mais baixa (33 °C), facilitando uma maior retenção de aroma e sabor, juntamente com enormes economias no custo de energia em comparação com o processamento convencional envolvendo etapas de aquecimento e arrefecimento.

1.1.4.4. Arrefecimento

O arrefecimento deve ser rápido para proteger a cor natural, sabor, conteúdo enzimático e outras substâncias biológicas do mel.

1.1.4.5. Embalamento

O mel deve ser embalado em embalagens apropriadas, destinadas a acondicionamento de produtos alimentícios. No embalamento a granel, recomendam-se baldes plásticos, com tampas e alças para fácil deslocamento. A vantagem em relação às latas, é que as latas podem amassar durante o transporte, causando o rompimento do verniz que recobre o seu interior, provocando a contaminação do produto. No embalamento de forma fracionada, recomenda-se frasco de vidro por ser o melhor material para o acondicionamento de produtos alimentícios, embora, em comparação com as embalagens de plástico, apresentem maior risco de quebra no armazenamento e transporte do produto. No entanto, deve-se estar atento a um ponto fundamental para a manutenção da qualidade do produto envasado, seja a sua opção vidro ou plástico, que é a qualidade de vedação da tampa. No caso da embalagem de vidro, ela deve conter anel interno de material plástico, que promova a vedação adequada, além de não permitir o contato direto do mel com o material metálico da tampa. Para as embalagens de plástico, as tampas devem permitir a vedação correta, de preferência com lacres que realmente promovam a segurança da abertura. O armazenamento do mel embalado deve ser feito em ambiente específico, com temperatura não ultrapassando os 26 °C (Inácio *et al.*, 2003).

Em Portugal, atualmente, grande parte dos apicultores optam por não aplicar tratamento de calor no mel, para não diminuir a qualidade nutricional do produto. A qualidade dos méis e o clima do país, permitem que o mel não seja submetido a tratamento térmico e mesmo assim não sofra fermentação. O fluxograma convencional do processo de extração do mel é: 1º Recebimento das colmeias; 2º Desoperculação; 3º Centrifugação; 4º Filtração; 5º Embalamento e 6º Armazenamento. No entanto este processo de extração não evita nem retarda o processo de cristalização natural do mel.

1.1.5. Cristalização do mel

Os méis podem apresentar uma consistência fluída, viscosa, parcialmente ou completamente cristalizada, dependendo da composição, temperatura e teor em água

(Abu-Jdayil *et al.*, 2002). O mel fluído e o mel cristalizado não apresentam diferenças essenciais em termos de qualidade (Arauco, n.d.).

A parcela de glucose e frutose presente no mel depende principalmente da fonte de néctar, podendo influenciar o seu sabor, uma vez que a frutose é mais doce do que a glucose, assim como a sua cristalização, visto que a glucose é menos solúvel em água do que a frutose (Rodríguez *et al.*, 2004). Todos os méis são líquidos quando produzidos pela abelhas, mas tendem a cristalizar espontaneamente, fenómeno esse que não altera a sua natureza (Zamora *et al.*, 2006). A quantidade de água presente no mel é uma das características mais importantes e que influencia diretamente a viscosidade, o peso específico, a maturidade, a cristalização, o sabor, a conservação e a palatabilidade. A água presente no mel apresenta forte interação com as moléculas dos açúcares diminuindo a disponibilidade das moléculas de água para o desenvolvimento microbiótico (Abramovic *et al.*, 2008).

Essas moléculas de água estão ligadas aos açúcares, principalmente por pontes de hidrogénio (Kuroishi *et al.*, 2012). Quando a cristalização ocorre de maneira descontrolada, ocorre a separação de fases, formando uma fase cristalina no fundo e uma fase líquida no topo gerando a formação de um produto sobrenadante de coloração escura com cristalização não uniforme (Crane, 1980).

1.1.5.1. Fatores que influenciam a cristalização

Os fatores associados à cristalização do mel são a temperatura, o ar, a relação entre glucose e entre frutose e água.

Temperatura: Temperaturas inferiores 10 °C retardam a cristalização pois o aumento da viscosidade dificulta a formação de cristais. Temperaturas entre 10 e 18 °C favorecem a cristalização, sendo os 14 °C a temperatura ótima para granulação. Temperaturas superiores a 25 °C dificultam a cristalização, no entanto, temperaturas muito elevadas por muito tempo destroem as enzimas presentes no mel e aumentam o teor de HMF. Recomenda-se que a temperatura de armazenamento seja inferior a 10 °C.

Bolhas de ar: Funcionam como núcleo de cristalização, acelerando o início da cristalização.

Índice glucose/frutose ≥ 1 : Quando o teor de glucose é maior ou igual ao da frutose, o mel tem tendência à cristalização.

Índice frutose/glucose > 2 : Quando o teor de frutose é pelo menos duas vezes maior que o de glucose o mel não sofrerá cristalização.

Índice de frutose/água: Quanto maior for esse índice, maior a tendência a cristalização (Arauco, s.d.).

1.1.5.2. Fatores que impedem/revertem o processo de cristalização

Existem diversos métodos para impedir a cristalização do mel: armazenamento em temperatura de congelação (-40 °C), tratamento térmico para dissolver cristais e os núcleos de cristais, remoção das bolhas de ar, poeira e partículas de pólen por filtração, embalamento a temperaturas mais altas (> 45 °C) para evitar incorporação de bolhas de ar durante o enchimento, adição de inibidores como ácido isobutírico e ascórbico, e ajuste da razão de glucose para frutose ou teor de água (Bhandari *et al.*, 1999).

1.1.6. Uso alternativo do mel

Além da vasta utilização do mel na indústria alimentar, principalmente como ingrediente de alguns produtos, como iogurte e bolachas, o mel tem sido testado com êxito, principalmente devido às suas qualidades antissépticas e cicatrizantes, tornando-se um produto utilizado na indústria farmacêutica em remédios, champôs, condicionadores, sabonetes, loções e óleos (Almeida *et al.*, 2009).

O uso do mel na produção de cerveja fornece açúcares fermentescíveis, contribui com um aroma e sabor próprio, além de agregar valor à bebida por ser um atrativo a mais para o consumidor. Do ponto de vista técnico, praticamente qualquer tipo de mel pode ser usado no processo de fabricação de cerveja e cada tipo de mel contribui com algo diferente em relação às características sensoriais do produto final. Estudos de análise sensorial de cervejas com mel revelaram que o mel diminui a percepção de acidez e sabor amargo na bebida. Em Portugal é muito comum a utilização do mel para a produção de hidromel devido ao excesso de mel Transmontano comercializado a preços abaixo dos custos de produção. O hidromel é uma bebida alcoólica que contém entre 8 a 18% volume alcoólico, sendo produzido através da fermentação, realizada por leveduras no mosto de mel com uma quantidade adequada de água (Gomes, 2010).

O tempo necessário para a fermentação e maturação de um hidromel varia desde vários meses a alguns anos, podendo ser classificado como seco ou licoroso, doce ou espumoso, de acordo com sua tecnologia de fabricação (Rodrigues, 2008). Esta produção depende do tempo de fermentação, da quantidade de mel utilizada e da graduação alcoólica resultante da adição de aguardente vínica (Gomes, 2010).

As leveduras adicionadas conferem aromas diversos à bebida, desejáveis ou indesejáveis. Mas também podem produzir diferentes teores alcoólicos no produto final e fermentar de forma diferenciada os açúcares, resultando daí diferentes teores de açúcar residual. As leveduras utilizadas na produção de hidromel são as de estirpes *Saccharomyces cerevisiae*, utilizadas na produção de vinho e cerveja. Estas leveduras atuam sobre açúcares como a glucose e a frutose, resultando na formação de etanol e dióxido de carbono (Gomes, 2010).

1.2. Água-mel

A água-mel é um produto à base de mel produzido em Portugal desde os tempos antigos. Vários atributos foram relatados para a água-mel, particularmente o alívio de

sintomas simples do trato respiratório. Este produto também é produzido na região da Sardenha (Itália) e é obtido a partir dos quadros de cera que ainda possuem resíduos de mel, sendo que estes se separam quando mergulhados em água quente. A mistura restante de água, mel, pólen e alguns propóleos, é submetida ao calor, até a obtenção de um produto líquido e acastanhado, chamada de “abbamele” (Spano *et al.*, 2008).

Em Portugal a produção de água-mel segue as mesmas etapas referidas na produção de *abbamele* na Itália. Este processo raramente é controlado, e é realizado pelo próprio apicultor. As temperaturas e grau Brix dependem da tradição do produtor. Alguns relatos de apicultores, que registaram os valores ao longo do processo, fazem o tratamento térmico entre 100 a 108 °C e 70 a 77 °Brix (Miguel *et al.*, 2013).

1.3. Aguardente de mel

O Regulamento (CE) n.º 110/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 15 de Janeiro, define aguardente de mel como uma bebida espirituosa obtida exclusivamente por fermentação e destilação do mosto de mel; É destilada a menos de 86% vol., de modo a que o destilado apresente as características organoléticas das matérias-primas utilizadas. O volume alcoólico mínimo da aguardente de mel é de 35% vol.

1.3.1. Produção de aguardente

A produção de mel em Portugal abrange milhares de famílias, representando uma fatia importante na economia do país. Adicionar valor a um subproduto de grande produção é uma mais-valia. A produção de aguardente de água-mel é uma possível e lucrativa alternativa.

A aguardente é obtida a partir da destilação de um mosto fermentado. As características do produto final dependem do substrato, da estirpe de levedura utilizada da composição do meio fermentado, bem como do processo de destilação utilizado. A graduação alcoólica das bebidas destiladas é superior à das bebidas fermentadas.

1.3.1.1. Fermentação alcoólica

A fermentação alcoólica é a mais importante na fabricação de bebidas alcoólicas. Fermentação é todo o fenómeno causado por microrganismos vivos, sejam bactérias, fungos ou leveduras, que decompõe e transformam o substrato em produtos variados, dependendo da composição do substrato e dos microrganismos presentes (Filho, 2005).

A fermentação compreende um conjunto de reações enzimaticamente controladas, através das quais uma molécula orgânica é degradada em compostos mais simples liberando energia, basicamente a fermentação alcoólica é o processo de decompor os açúcares em etanol, dióxido de carbono e energia (August *et al.*, 2006).

Como a água-mel contém uma elevada concentração de açúcares, é relativamente simples fazer a fermentação alcoólica desse mosto, semelhante à produção de hidromel (Navrátil *et al.*, 2001).

A fermentação alcoólica é um processo constituído basicamente por três etapas importantes: fermentação inicial, onde ocorre a multiplicação das leveduras, devendo esta etapa ser curta para adaptação das mesmas ao meio; fermentação principal, onde se observa um significativo desprendimento de CO₂, com intensa produção de álcool; e fermentação complementar, onde há o consumo dos açúcares restantes no meio (Filho, 2005).

Na fermentação alcoólica, a principal rota metabólica envolvida é a glicólise. Por essa via uma molécula de glucose é metabolizada e duas moléculas de piruvato são produzidas. Sob condições de anaerobiose, o piruvato é reduzido a etanol com a libertação de CO₂. Além de etanol e CO₂, vários subprodutos também são sintetizados em rotas metabólicas alternativas (Bai *et al.*, 2008).

As leveduras utilizadas na produção de bebidas alcoólicas devem apresentar as seguintes características: alta tolerância ao álcool, bom rendimento, fermentar rapidamente o mosto, portanto, minimizar o risco de contaminação, produzir a melhor concentração e balanço de compostos secundários desejáveis. Devem ainda apresentar estabilidade genética e no fim da fermentação, serem facilmente removidas do meio por floculação ou centrifugação (Oliveira, 2001).

Na produção de hidromel são adicionadas leveduras para maior rentabilidade na fermentação, sendo que o mel não possui em quantidade fermentos à sua superfície, como ocorre nas uvas. Como no hidromel, para a fermentação da água-mel são normalmente utilizadas estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* - levedura unicelular que se multiplica rapidamente a sua população em meio favorável contendo açúcar (Gomes, 2010).

Problemas inerentes ao processo de fermentação de água-mel:

Devido à elevada concentração de açúcares, o processo fermentativo é bastante lento. A qualidade do mel, a estirpe da levedura, a quantidade de nutrientes disponível e o pH do meio, são parâmetros importante e que afetam a produção e qualidade do produto final (Navrátil *et al.*, 2001).

É indispensável o controlo da fermentação, as leveduras podem entrar em *stress* devido a resposta indesejada às condições desfavoráveis do meio ao seu crescimento. Esse *stress* pode proporcionar a produção de *flavours* indesejados (Attfield, 1997). Alguns dos prováveis fatores de *stress* são: o choque térmico (calor ou frio), as limitações de nutrientes essenciais, o *stress* osmótico, o *stress* oxidativo, a privação de azoto e a toxicidade ao etanol (Bauer *et al.*, 2000). O *stress* das leveduras pode interromper o processo fermentativo antes que todos os açúcares sejam consumidos. Duas situações em especial são potenciais fatores: o *stress* provocado pela alta concentração de etanol, o qual por ser um metabolito tóxico exerce grande inibição no crescimento celular das leveduras, e a pressão osmótica devido à alta concentração de açúcares no início da fermentação (Piddocke *et al.*, 2009).

Dessa forma, o estudo da resistência ao *stress* pode ser utilizado como modo de seleção de levedura a utilizar, uma vez que existe uma relação documentada do desempenho fermentativo das leveduras e a resistência a essas condições (Zuzuarregui *et al.*, 2004).

Dentre os principais fatores de *stress* do processo fermentativo, os baixos níveis de substâncias azotadas e minerais presentes no mel, afetam diretamente a multiplicação das leveduras. O pH ácido do mosto fermentativo afeta negativamente a evolução do processo (Gomes, 2010). De todos os nutrientes assimilados pelas leveduras durante a fermentação alcoólica, os compostos azotados e carbonados são fundamentais para o crescimento das leveduras. O aumento da concentração de etanol no mosto dificulta ainda mais a assimilação do azoto pelas leveduras (Casellas, 2005).

A diferença de concentração entre a glucose e a frutose também pode influenciar o processo fermentativo, já que as estirpes de *Saccharomyces cerevisiae* metabolizam preferencialmente a glucose, sendo esta consumida mais rapidamente (Fleet, 1998).

No final da fermentação, quando as fontes de azoto são consumidas e as concentrações de etanol são elevadas, algumas estirpes também têm dificuldades em fermentar a frutose restante (Bauer *et al.*, 2000).

O método ideal para a fermentação de água-mel não se encontra bem definido, por essa razão, o controlo do processo fermentativo é indispensável.

1.3.1.2. Destilação

Destilação é um processo muito estudado. Os primeiros relatos científicos documentados surgiram na Idade Média. Na Europa esse processo foi introduzido pelos árabes, mas foram os Egípcios a construírem utensílios semelhantes ao alambique. Por volta do ano 800 D.C., foi o alquimista Jabir ibn Hayyan (Geber) quem desenvolveu o alambique, que é um equipamento usado até hoje para fazer destilações de bebidas alcoólicas, como a aguardente (Silva *et al.*, 2017). A palavra alambique derivou do significado metafórico de “algo que refina; que transmuta”, mediante a destilação. No séc. XIX a destilação do álcool era feita nos alambiques a 75 °C (Scriban, 1999).

Em 1808 foi construída a primeira coluna para destilação contínua do tratamento de vinhos de raiz. Só em 1818 foram contruídas as colunas adaptadas à destilação de mosto de uvas. O teor alcoólico na bebida destilada é superior ao mosto por causa do processo de purificação (Barata, 2013).

A destilação é o processo de volatilizar líquidos pelo aquecimento, condensando-os a seguir, objetivando especialmente a purificação e concentração ou formação de produtos novos por decomposição das frações (Filho, 2005).

O processo que deve ser feito baseia-se em ferver o mosto dentro de um alambique de cobre, produzindo vapor de álcool que é condensado por arrefecimento produzindo

a aguardente. A primeira fração do destilado refere-se à cabeça, que é uma porção rica em acetato de etilo, a segunda fração corresponde ao coração, trata-se da parte importante da destilação que representa a parte da aguardente para consumo e a terceira parte corresponde à cauda, que é a parte do destilado com menor grau alcoólico (Oliveira *et al.*, 2008).

1.4. Licores

Inicialmente o termo “licor” abrangia quase todas as bebidas e preparações químicas (Almeida *et al.*, 2007). A definição de licor surge do latim *liquifacere*, bebida alcoólica açucarada com sabores e aromas a frutos frescos ou secos, ervas, flores e especiarias” (Lidon *et al.* 2007). É difícil relatar ao certo o surgimento dos licores. Foram encontradas nas tumbas do velho Egito receitas de licores usados medicinalmente. Na época medieval era frequente os licores serem aplicados como aromatizantes para mascarar as más condições de alguns alimentos, e em algumas sobremesas, devido ao seu grau de doçura (Barata, 2013).

Segundo o Artigo 2.º do Decreto-lei nº 257/87 de 25 de Junho, licor é uma “bebida espirituosa resultante da mistura de álcool etílico de origem agrícola e ou aguardente, água potável, açúcar e eventualmente outros géneros alimentícios, de sabor doce e aromatizada por maceração de substâncias vegetais ou pelo destilado das mesmas substâncias ou ainda por adição de aromatizantes.”.

Segundo Belitz e Grosch (1997), licor é uma bebida espirituosa resultante da mistura de álcool etílico e/ou aguardente, água, açúcar e outros géneros alimentícios doces. Nessas bebidas doces de alto teor alcoólico, que no geral variam entre 20 a 30% volume alcoólico, pode dizer-se que os teores alcoólicos variam com a espécie e o processo com que é feito o licor. Os primeiros licores eram de alto teor alcoólico e tinham composições complexas que se foram simplificando com o passar dos tempos. Um dos mais famosos e antigos é o Jagermeister da Alemanha com 56 ingredientes (Vieira, 2010).

1.4.1. Classificação dos Licores

De acordo com Sabino (1995), podemos classificar os licores consoante o método de extração de essências:

- Licores de destilação;
- Licores de maceração;
- Licores de infusão (efetuado a frio ou a quente);
- Licores de junção de essências.

Quanto à concentração de açúcar, os licores classificam-se em:

- Secos (de 60 a 100 g/l);
- Doces (de 100 a 200 g/l);
- Finos (de 200 a 350 g/l);
- Cremes (acima de 350 g/l).

Quando envolvem vários métodos de preparação ou várias substâncias aromatizantes denominam-se de licores mistos. Podem ainda ser adicionados corantes e edulcorantes naturais ou artificiais. Os licores também se classificam pelas matérias-primas de fabrico – plantas, frutos, essências, à base de natas e de ovos (Sabino, 1995).

1.4.2. Produção de licores

Hoje em dia em Portugal existe uma vasta gama de licores, destacando-se o Licor Beirão, o Licor do Mosteiro de Singeverga, entre outros, vendidos tanto dentro como fora do país (Vieira, 2010).

Segundo a Associação Nacional de Empresas de Bebidas Espirituosas, as bebidas espirituosas têm um peso de 11% no total de bebidas alcoólicas consumidas em Portugal. Em 2016, os portugueses consumiram 24,1 milhões de litros de bebidas espirituosas, mais 3,71% do que em 2015, de acordo com os dados da consultora britânica IWSR (Velho, 2017).

As quantidades produzidas variam muito de uns produtores para outros. Os de maior dimensão produzem cerca de 5 000 garrafas por mês. Muitos dos licoristas artesanais começaram por produzir apenas destilados, herdando a atividade de antecessores familiares e só posteriormente iniciam a produção de licores como uma atividade complementar (Almeida *et al.*, 2007). A variedade de licores artesanais é vasta, sendo difícil catalogá-los por ordem de importância ou volume de produção. De qualquer forma destacam-se em Portugal a nível industrial os licores de Amêndoa Amarga (Amarguinha) e os licores de mel do Algarve (Brandymel) e o Licor Beirão.

1.4.3. Melosa

As matérias-primas que dão nome aos licores têm origens diversas e muitas com aplicações no tratamento de doenças, a maior parte esquecidas e substituídas pelos diversos fármacos disponíveis nos dias de hoje. Essas matérias-primas normalmente existem em abundância na região de produção (Barata, 2013). Esse é o caso da Melosa, um licor típico do Algarve, feito a partir da mistura de aguardente de medronho ou aguardente de mel, com mel e algumas especiarias. O grande segredo da receita é a utilização de ingredientes de qualidade.

A composição deste licor é secular, com as receitas a serem passadas de geração em geração de famílias, que fazem parte da tradição algarvia.

1.5. Análise Sensorial

A Análise Sensorial pode ser definida como “a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar as reações às características de bens alimentares e de outros bens materiais tais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, sabor, tato e audição” ou como o “exame das características organoléticas de um produto pelos órgãos dos sentidos” (Silva, 2015).

Atualmente o consumidor está cada vez mais exigente e informado, sendo o aumento da consciência para os aspetos sensoriais dos produtos alimentares um benefício secundário da crescente preocupação com a segurança alimentar. Dada a elevada frequência de consumo e a inevitável necessidade fisiológica do ser humano, os bens alimentares ocupam um lugar privilegiado no que diz respeito à avaliação das características percebidas pelos sentidos (Alvelos, 2002).

No decorrer do tempo, foram-se criando rituais de atribuição de classificações a alguns produtos alimentares como o café, o vinho, o peixe, a manteiga, o chá e a carne, alguns que ainda se cumprem atualmente. E foram desses rituais que surgiu o conceito de provador profissional que assumiu o papel de consultor na indústria alimentar e farmacêutica. Sendo assim a qualidade sensorial de alguns alimentos, muitas vezes, dependia de um único provador, que era responsável pela produção e alterações no processo, de forma a garantir que o produto final possuísse as características desejadas (Lawless *et al.*, 2010).

A Análise Sensorial moderna substituiu os provadores individuais por painéis de provadores, que é uma equipa de profissionais qualificados para analisar as características sensoriais de um produto para um determinado fim, como a seleção da matéria-prima a ser utilizada num novo produto, o efeito de processamento, a qualidade da textura, o sabor, a estabilidade de armazenamento, a reação do consumidor, entre outros (Teixeira, 2009).

1.5.1. Propriedades Sensoriais

As características organoléticas de um produto são os atributos do mesmo perceptíveis pelos nossos sistemas sensoriais: olfativo, gustativo, tátil e visual. Não obstante, em determinados géneros alimentícios é ainda importante a percepção auditiva, produzida durante a mastigação (Silva, 2015).

1.5.1.1. Cor

O aspeto cor é definido como o conjunto das propriedades visíveis de uma substância ou de um produto (Costa *et al.*, 2016). A primeira impressão do consumidor com um produto é seu aspeto visual, onde se destacam a cor, a forma, a textura exterior, o brilho, a limpidez e a transparência. Todo o produto possui uma aparência e uma cor esperadas que são associadas às reações pessoais de aceitação, indiferença ou rejeição. A cor de um objeto possui três traços distintos que são o tom, definido pelo comprimento de onda da luz refletida pelo objeto; a intensidade, que depende da concentração de substâncias dentro do alimento e a luminosidade, que é a quantidade

da luz refletida pelo corpo em comparação com a quantidade de luz que incide sobre o mesmo (Teixeira *et al.*, 1987).

O “bom aspeto” de um produto alimentar é essencial para a sua aceitação pelo consumidor, e é a primeira característica do produto a ser apreciada. Dessa forma, a sua avaliação deve ser a primeira a ser efetuada durante o processo de prova.

1.5.1.2. Odor

O odor de um produto é detetado quando os seus componentes voláteis penetram no nariz e são percebidos pelo sistema olfativo. Esta informação é enviada para os nervos olfativos e destes para o cérebro. Normalmente, a sensação do odor em bens alimentares precede a do sabor, visto que, ainda antes de se levar o alimento à boca, os seus componentes voláteis são libertados, atingindo o sistema olfativo. A saturação das células recetoras é um problema durante uma prova. Para a evitar, deve-se cheirar o produto durante curtos períodos de tempo (1 a 2 segundos), fazer intervalos (5 a 20 segundos) e “limpar” as vias respiratórias respirando num ambiente não odorado ou, em alternativa, cheirando substâncias diferentes. A sensibilidade aos vários odores é afetada por diversos fatores que variam conforme as pessoas, tais como o humor, a concentração ou a saúde, e pela interação com outros sentidos, como o paladar e a visão (Alvelos, 2002).

1.5.1.3. Sabor

O processo de avaliação sensorial de um alimento na boca é complexo, engloba um conjunto de sensações olfativas, gustativas e químicas, sendo este conjunto de sensações denominado por “*flavor*” (Costa *et al.*, 2016).

O sabor identifica, através das papilas gustativas, as características básicas (ou gostos primários) dos alimentos, ou seja, os gostos doce, salgado, ácido e amargo. As sensações olfativas da degustação são as que permitem a deteção do aroma do produto, diferente dos correspondentes ao odor. Essa deteção dá-se pelos componentes voláteis que se encontram na boca e que atingem o órgão olfativo por via retro nasal. Sendo assim, em análise sensorial, os conceitos de odor e de aroma são distintos. As sensações químicas resultam da estimulação de terminais nervosos de algumas membranas das cavidades bucal e nasal. Estas sensações são a adstringência, o sabor picante, a sensação de frio na boca, a pungência e o sabor metálico. Durante a análise sensorial os provadores são aconselhados a degustar pouca quantidade de produto de cada vez, retê-las na boca por poucos segundos e esperar algum tempo (15 a 60 segundos) antes de provarem outra vez (Alvelos, 2002).

1.5.2. Preparação e apresentação das amostras

A análise sensorial deve ser conduzida num local apropriado, especialmente construído ou adaptado para o efeito (sala de provas ou laboratório de análise sensorial).

Segundo a NP 4258:1993 este local deve, no mínimo, ter:

- i. Um local de ensaio que permita o trabalho individual e/ou em grupo;
- ii. Um local para a preparação das amostras (cozinha).

De acordo com a mesma norma é desejável a existência das seguintes áreas:

- iii. Gabinete administrativo;
- iv. Vestiário;
- v. Local de relaxe ou decompressão;
- vi. Instalações sanitárias.

Além destas áreas podemos ainda considerar que quando necessário haja adaptação dos locais envolventes, como um local próprio para o armazenamento das amostras quando a quantidade a tratar não permita o seu armazenamento na zona de preparação; a existência de um local próprio, e separado da zona de preparação das amostras, para a receção e codificação de amostras (quando por exemplo é necessário garantir a confidencialidade de marcas); ou uma sala de espera.

As amostras devem ser apresentadas em recipientes adequados, uniformes, limpos, sem odores ou sabores residuais e em tamanho adequado. Para os provadores não sofrerem qualquer influência psicológica, as amostras devem ser devidamente preparadas antes de serem apresentadas para a análise. A temperatura e humidade do local de ensaio deve ser constante e controlável. Em geral é recomendada uma temperatura de 20 ± 2 °C e uma humidade relativa entre 60 e 70%. O local das provas deve ser isento de ruídos externos, bem ventilado e livre de odores. A cor do ambiente deve ser neutra, com iluminação uniforme, sem sombras e controlável. Em certas provas é necessário a utilização de cabinas de prova individuais, para limitar as distrações dos provadores de modo a evitar que comuniquem entre si (Noronha, 2003).

1.5.3. Teste de Ordenação Simples

O teste de ordenação simples consiste na apresentação simultânea de k amostras aos provadores, ordenadas aleatoriamente, que devem arranjá-las em ordem (crescente ou decrescente) de acordo com os parâmetros de análises previamente estabelecidos: preferência ou intensidade das características. É um teste relativamente fácil de se executar e permite comparar vários produtos simultaneamente (Teixeira, 2009).

Este teste não permite quantificar as diferenças entre as amostras e não deve ser utilizado quando existe diferenças muito grande entre as amostras no que diz respeito à intensidade das características. O mínimo de amostras é 3 e o máximo geralmente é 10, dependendo das condições dos juízes, podendo ser maior quanto maior o treino e

experiência do painel de provadores. Dada a simplicidade da prova, esta pode ser realizada com provadores com pouco treino. Em geral basta que os provadores estejam bem familiarizados com o atributo ou produto em estudo. A prova deve ser realizada com um mínimo de 5 a 8 provadores, sendo a discriminação bastante melhorada se poderem ser utilizados 16 ou mais provadores (Noronha, 2003).

1.5.3.1. Análise dos resultados

Inicialmente os resultados obtidos poderão ser apresentados em forma de tabela que englobará os resultados de todos os provadores. No caso de terem sido registados empates estes deverão ser identificados, por exemplo utilizando um sinal de igual. Em seguida, as respostas dos provadores deverão ser codificadas de acordo com a ordem. No caso de empate deverão ser utilizadas as médias das ordens. Comparando a soma das ordens é possível fazer estimativa das diferenças entre as amostras (Noronha, 2003).

Os resultados da prova podem ser analisados com recurso à análise de Friedman (Alvelos, 2002).

1.5.3.2. Comparação das amostras usando o teste de Friedman

Inicialmente deve-se calcular o valor de Friedman (Fr), utilizando a Equação 1:

$$Fr = \frac{12}{Nk(k+1)} \sum_{j=1}^k R_j^2 - 3N(k+1) \quad \text{Equação 1}$$

Onde,

N: número de provadores

k: número de amostras

R_j: representa a soma das ordens para o produto j (1, 2, ..., k).

Os valores calculados de Fr devem então ser comparados com os valores críticos para a análise de variância por número de ordem de Friedman representado na Tabela 2.

Se o valor calculado for superior ao valor tabelado, para um dado número de amostras, provadores e nível de significância escolhido, deverá ser concluído que existe uma diferença global entre as amostras.

Tabela 2 - Valores Críticos para a análise de variância por número de ordem de Friedman.

k^1	N^2	$\alpha \leq 0.10$	$\alpha \leq 0.05$	$\alpha \leq 0.01$
3	3	6.00	6.00	-
	4	6.00	6.50	8.00
	5	5.20	6.40	8.40
	6	5.33	7.00	9.00
	7	5.43	7.14	8.86
	8	5.25	6.25	9.00
	9	5.56	6.22	8.67
	10	5.00	6.20	9.60
	11	4.91	6.54	8.91
	12	5.17	6.17	8.67
	13	4.77	6.00	9.39
	∞	4.61	5.99	9.21
4	2	6.00	6.00	-
	3	6.60	7.40	8.60
	4	6.30	4.80	9.60
	5	6.36	7.80	9.96
	6	6.40	7.60	10.00
	7	6.26	7.80	10.37
	8	6.30	7.50	10.35
	∞	6.25	7.82	11.34
5	3	7.47	8.53	10.13
	4	7.60	8.80	11.00
	5	7.68	8.96	11.52
	∞	7.78	9.49	13.28

Fonte: (Noronha, 2003)

1.5.3.3. Comparação de duas amostras individuais após o método de Friedman

Nos casos em que tiver sido demonstrado que existe uma diferença significativa entre as amostras, a partir do método de Friedman, poderá ser interesse saber entre que amostras existe uma diferença significativa. O teste de Friedman somente indica se as amostras são ou não, estatisticamente diferentes (Noronha, 2003).

Considerando quaisquer duas amostras i e j e as duas somas de ordem R_i e R_j , podemos, segundo a Norma ISO 8587:1988 pode-se dizer que as amostras são significativamente diferentes se:

$$|R_i - R_j| \geq 1,96 \sqrt{\frac{N \times k \times (k+1)}{6}} \text{ para um nível de significância de 5\%, ou,} \quad \text{Equação 2}$$

$$|R_i - R_j| \geq 2,576 \sqrt{\frac{N \times k \times (k+1)}{1}} \text{ Para um nível de significância de 1\%.} \quad \text{Equação 3}$$

Este teste pode ser aplicado a um total de $\frac{k \times (k+1)}{2}$ pares de amostras.

A combinação do teste de Friedman com o teste de ordenação simples nos possibilita uma indicação útil de como as amostras podem ser hierarquicamente ordenadas. No entanto, quanto maior o número de comparações efetuadas, maior o risco de efetuar uma conclusão errada. Para diminuir esse risco Siegel e Castellan (1998), apresentam a seguinte fórmula:

$$|R_i - R_j| \geq z_{\frac{\alpha}{k(k+1)}} \sqrt{\frac{N \times k \times (k+1)}{6}} \quad \text{Equação}$$

4

Onde $z_{\frac{\alpha}{k(k+1)}}$ representa o valor da abscissa da distribuição normal $N(0,1)$ acima da qual encontramos $\frac{\alpha}{k(k+1)}$ para probabilidade. Os valores de z podem ser determinados utilizando a Tabela 3.

Tabela 3 - Área compreendida pela curva normal reduzida, $N(0;1)$, de 0 a z

z	.00	.01	.02	.03	.04	.05	.06	.07	.08	.09
0.0	0.0000	0.0040	0.0080	0.0120	0.0160	0.0199	0.0239	0.0279	0.0319	0.0359
0.1	0.0398	0.0438	0.0478	0.0517	0.0557	0.0596	0.0636	0.0675	0.0714	0.0753
0.2	0.0793	0.0832	0.0871	0.0910	0.0948	0.0987	0.1026	0.1064	0.1103	0.1141
0.3	0.1179	0.1217	0.1255	0.1293	0.1331	0.1368	0.1406	0.1443	0.1480	0.1517
0.4	0.1554	0.1591	0.1628	0.1664	0.1700	0.1736	0.1772	0.1808	0.1844	0.1879
0.5	0.1915	0.1950	0.1985	0.2019	0.2054	0.2088	0.2123	0.2157	0.2190	0.2224
0.6	0.2257	0.2291	0.2324	0.2357	0.2389	0.2422	0.2454	0.2486	0.2517	0.2549
0.7	0.2580	0.2611	0.2642	0.2673	0.2704	0.2734	0.2764	0.2794	0.2823	0.2852
0.8	0.2881	0.2910	0.2939	0.2967	0.2995	0.3023	0.3051	0.3078	0.3106	0.3133
0.9	0.3159	0.3186	0.3212	0.3238	0.3264	0.3289	0.3315	0.3340	0.3365	0.3389
1.0	0.3413	0.3438	0.3461	0.3485	0.3508	0.3531	0.3554	0.3577	0.3599	0.3621
1.1	0.3643	0.3665	0.3686	0.3708	0.3729	0.3749	0.3770	0.3790	0.3810	0.3830
1.2	0.3849	0.3869	0.3888	0.3907	0.3925	0.3944	0.3962	0.3980	0.3997	0.4015
1.3	0.4032	0.4049	0.4066	0.4082	0.4099	0.4115	0.4131	0.4147	0.4162	0.4177
1.4	0.4192	0.4207	0.4222	0.4236	0.4251	0.4265	0.4279	0.4292	0.4306	0.4319
1.5	0.4332	0.4345	0.4357	0.4370	0.4382	0.4394	0.4406	0.4418	0.4429	0.4441
1.6	0.4452	0.4463	0.4474	0.4484	0.4495	0.4505	0.4515	0.4525	0.4535	0.4545
1.7	0.4554	0.4564	0.4573	0.4582	0.4591	0.4599	0.4608	0.4616	0.4625	0.4633
1.8	0.4641	0.4649	0.4656	0.4664	0.4671	0.4678	0.4686	0.4693	0.4699	0.4706
1.9	0.4713	0.4719	0.4726	0.4732	0.4738	0.4744	0.4750	0.4756	0.4761	0.4767
2.0	0.4772	0.4778	0.4783	0.4788	0.4793	0.4798	0.4803	0.4808	0.4812	0.4817
2.1	0.4821	0.4826	0.4830	0.4834	0.4838	0.4842	0.4846	0.4850	0.4854	0.4857
2.2	0.4861	0.4864	0.4868	0.4871	0.4875	0.4878	0.4881	0.4884	0.4887	0.4890
2.3	0.4893	0.4896	0.4898	0.4901	0.4904	0.4906	0.4909	0.4911	0.4913	0.4916
2.4	0.4918	0.4920	0.4922	0.4925	0.4927	0.4929	0.4931	0.4932	0.4934	0.4936
2.5	0.4938	0.4940	0.4941	0.4943	0.4945	0.4946	0.4948	0.4949	0.4951	0.4952
2.6	0.4953	0.4955	0.4956	0.4957	0.4959	0.4960	0.4961	0.4962	0.4963	0.4964
2.7	0.4965	0.4966	0.4967	0.4968	0.4969	0.4970	0.4971	0.4972	0.4973	0.4974
2.8	0.4974	0.4975	0.4976	0.4977	0.4977	0.4978	0.4979	0.4979	0.4980	0.4981
2.9	0.4981	0.4982	0.4982	0.4983	0.4984	0.4984	0.4985	0.4985	0.4986	0.4986
3.0	0.4987	0.4987	0.4987	0.4988	0.4988	0.4989	0.4989	0.4989	0.4990	0.4990
3.1	0.4990	0.4991	0.4991	0.4991	0.4992	0.4992	0.4992	0.4992	0.4993	0.4993
3.2	0.4993	0.4993	0.4994	0.4994	0.4994	0.4994	0.4994	0.4995	0.4995	0.4995
3.3	0.4995	0.4995	0.4995	0.4996	0.4996	0.4996	0.4996	0.4996	0.4996	0.4997
3.4	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4997	0.4998
3.5	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998	0.4998
3.6	0.4998	0.4998	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999
43.7	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999
3.8	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999	0.4999
3.9	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000

Fonte: (Noronha, 2003)

Para a comparação dos resultados das amostras podem ser utilizadas linhas que ligam amostras que são iguais entre si. Como o exemplo representado na Figura 4:

A E D B C

Figura 10 - Comparação de Resultados.

Fonte: (Noronha, 2003)

Onde, A, E e D apresentam semelhanças entre si, e D, B e C também. Pode-se também ser representada por código, em letras minúsculas como:

A E D B C
a a ab b b

Figura 11 - Comparação de Resultados.

Fonte: (Noronha, 2003)

Nesta representação todas as amostras com o mesmo código (a ou b, neste caso) são não distinguíveis. Amostras com códigos diferentes são distinguíveis.

1.6. Processo de altas pressões em alimentos

A qualidade, a segurança e a estabilidade dos produtos alimentares estão atualmente entre os fatores mais importantes que influenciam as escolhas dos consumidores. É, portanto, da maior importância para a indústria alimentar continuar a desenvolver métodos mais eficientes capazes de minimizar as alterações indesejáveis nos alimentos associados ao seu processamento, como perda de cor, sabor, textura, cheiro e, mais importante, valor nutricional. O processamento de altas pressões (HPP), também conhecido como alta pressão hidrostática (HHP), consiste num processo relativamente novo e não térmico que sujeita os alimentos (líquidos ou sólidos, pré embalados ou não) a pressões entre 50 e 1000 MPa (Considine *et al.*, 2008). Nas indústrias, as pressões utilizadas e economicamente viáveis encontram-se na faixa de 300 a 700 MPa (Farkas *et al.*, 2000).

A pesquisa do processo de altas pressões nos alimentos iniciou-se há mais de um século, em 1899, por Bert Hite em West Virgínia, que realizou experiências com leite, frutas e uma variedade de outros alimentos sujeitos a pressões muito superiores à pressão atmosférica, observando um aumento do período de vida útil após esse processo. Nos últimos anos, os estudos de Hite estenderam-se à inativação dos vírus, se o leite fosse submetido a pressões de 650MPa durante 10 minutos à temperatura ambiente (Hendrickx *et al.*, 2004). A indústria alimentar não cativou interesse na utilização de altas pressões até meados da década de 1980, que marcou um ressurgimento do interesse no tratamento com HPP comercial como alternativa ao processamento térmico de alimentos (Garriga *et al.*, 2002).

O desenvolvimento deste processo tem-se dado a partir de 1985, quando o desenvolvimento da tecnologia da engenharia mecânica permitiu a construção de equipamento de alta pressão com durabilidade suficiente para resistir a milhares de ciclos. Recentemente, o HPP estendeu-se aos molhos, sumos, produtos de arroz, peixe, refeição prontas, produtos de aves e carnes prontas para consumo (Murchie *et al.*, 2005).

1.6.1. Descrição do processo

O processo tem por base dois princípios fundamentais da física: o Princípio de Le Chatelier, que descreve que qualquer fenómeno, como mudança de fase, geometria molecular ou reação química acompanhada por uma variação de pressão está associada a uma mudança de volume, ou seja, aumentar a pressão provoca uma diminuição do volume; e o princípio isostático (teoria de Pascal) que define que a pressão aplicada nos alimentos é transmitida de forma isostática e instantânea, assim, o processo não depende da forma ou tamanho do alimento (Smelt, 1998). A principal vantagem disso é que o alimento é tratado uniformemente, o que não ocorre no tratamento térmico, podendo ser problemático em alimentos grandes ou volumosos.

A pressurização de alimentos à temperatura ambiente é geralmente acompanhada por um aumento moderado da temperatura, denominado aquecimento adiabático. Dependendo da composição do alimento, geralmente o aquecimento pode ser considerado de 3 °C por cada 100MPa de pressão aplicada. A temperatura regressa ao valor original durante a descompressão (Balasubramanian *et al.*, 2003). Este aquecimento e arrefecimento adiabático ocorre de forma instantânea, uma vez que as alterações de temperatura provocadas pelo aumento da pressão são homogêneas em todo o produto.

No que se refere ao processo operacional, este pode ser efetuado em contínuo ou semicontínuo, sendo que todos os equipamentos são compostos por uma câmara de pressão, um sistema de geração de pressão, um sistema operacional e um dispositivo para o controlo de temperatura (Figura 6) (Roldão, 2014).

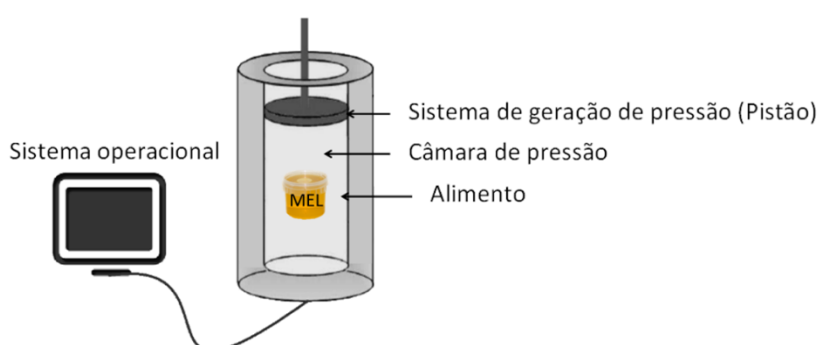


Figura 12 - Sistema de Altas Pressões Hidrostáticas.
Fonte: Adaptado de Roldão (2014)

1.6.2. Embalagem

O tipo de material utilizado no processo para empacotar o alimento tem de ser adequado e suficientemente flexível para transmitir a pressão sem danos estruturais. Devido à pressurização, o alimento é comprimido e a embalagem tem que permitir esta deformação reversível. Materiais rígidos como metal e vidro não são recomendados, pois não serão capazes de suportar o tratamento de HPP. Os produtos embalados a vácuo em embalagens flexíveis parecem ideais para HPP, particularmente se a embalagem pode ser comprimida em cerca de 15% sem sofrer danos estruturais e é capaz de voltar à sua forma original após a libertação de pressão. Atualmente, embalagens flexíveis, frascos plásticos, bandejas e garrafas plásticas são usadas como embalagens para o HPP (Considine *et al.*, 2008).

1.6.3. Efeito do HPP sobre os compostos alimentares

Quando os alimentos são submetidos a pressões superiores a 100 MPa, as ligações covalentes (pontes de hidrogénio, ligação iónica e hidrofóbicas) são afetadas, por serem muito sensíveis à pressão. Os compostos de baixa massa molecular, responsáveis pelas características sensoriais e nutricionais dos alimentos, como vitaminas, compostos de sabor e pigmentos, não são afetados pela pressão (Martínez-Monteagudo *et al.*, 2016).

Alguns compostos sofrem alterações irreversíveis quando submetidos a HPP. A gelatinização dos hidratos de carbono e a desnaturação proteica pode ocorrer com pressões elevadas sem aumentar a temperatura.

Devido à transmissão quase instantânea de pressão isostática, os alimentos tratados com HPP mantiveram a sua frescura original e melhoraram as funcionalidades (Butz, 2010). Não há informação disponível sobre o efeito da alta pressão sobre a atividade antioxidante e qualidade, ou seja, cor e propriedades reológicas do mel (Fauzi *et al.*, 2014).

1.6.4. Efeito do HPP sobre os microrganismos

A alta pressão afeta os microrganismos de forma semelhante ao tratamento térmico. A desnaturação de proteínas, que são essenciais para muitas das funções da célula bacteriana, tem um grande impacto na sua inativação e pode eventualmente resultar na morte celular se for aplicada uma quantidade suficiente de pressão que impossibilite a reparação/recuperação da célula. Isso ocorre nos organismos que deterioram os alimentos, como as leveduras e as bactérias lácticas, bem como *Escherichia coli*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* (organismos patogénicos) (Considine *et al.*, 2008).

Os principais benefícios da aplicação de HPP para os diferentes produtos alimentares sob uma perspetiva microbiana incluem prolongar a vida útil do produto e melhorar a segurança alimentar.

Por outro lado, a HPP não é eficaz na inativação de todos os microrganismos. Os organismos esporulados são altamente resistentes à HPP quando estão na sua forma de esporos, e é necessária uma combinação de pressão e calor, ou alguma outra intervenção antibacteriana, para conseguir a redução dos esporos bacterianos nos alimentos. Em particular, os do *Clostridium botulinum*, que podem germinar, crescer e produzir uma toxina neurológica parálitica altamente potente em alimentos de baixa acidez (Considine *et al.*, 2008).

É importante considerar a composição do alimento. Tal desempenha um papel importante na eficácia do tratamento de HPP, bem como o tipo de organismos que podem ser capazes de crescer ou sobreviver no produto devendo ser cuidadosamente considerados.

1.7. Referências Bibliográficas

- Abramovic, H., Burkan, L., Jamnik, M., & Kac, M. (2008). Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.11.008>
- Abu-Jdayil, B., Ghzawi, A. A.-M., Al-Malah, K. I. M., & Zaitoun, S. (2002). Heat effect on rheology of light - and dark - colored honey. *Journal of Food Engineering*, 51(1), 33–

- Almeida, M. A. D. de, & Carvalho, C. M. S. (2009). Apicultura: Uma oportunidade de negócio sustentável. *Sebrae*, 52. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Almeida, V. R., & Galego, L. (2007). *Aguardentes de Frutos e Licores do Algarve*.
- Alqarni, A. S., Owayss, A. A., Mahmoud, A. A., & Hannan, M. A. (2014). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(5), 618–625. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/w0076e/w0076e00.htm#con>
- Alvelos, H. (2002). Análise , Desenvolvimento e Teste de Métodos e Técnicas para Controlo Estatístico em Análise Sensorial.
- Arauco, E. M. R. (n.d.). *Mel*.
- Attfield, P. V. (1997). Stress tolerance: The key to effective strains of industrial baker's yeast. *Nature Biotechnology*, 15, 1351–1357.
- August, B., Bates, S., Carey, D., Grossman, K., Wallin, C. E., Wood, G. E. (2006). *Fermentation Cellaring, and Packaging Operation*. BriggPort Brewing Company, Portland, Oregon.
- Balasubramanian, S., & Balasubramanian, V. M. (2003). Compression heating influence of pressure transmitting fluids on bacteria inactivation during high pressure processing. *Food Research International*, 36(7), 661–668.
- Barata, F. dos A. de M. (2013). Desenvolvimento de uma gama de licores artesanais. *Escola Superior de Hotelaria e Turismo Do Estoril*, 1–165.
- Barbosa, M. F. A. (2012). Avaliação da estabilidade de mel da mesma origem ao longo de 6 anos: comparação com mel comercializado., 99.
- Bauer, F. F., & Pretorius, I. S. (2000). Yeast Stress Response and Fermentation Efficiency : How to Survive the Making of Wine - A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(Special Issue), 27–51.
- Belitz, H. D. (2012). *Química de los alimentos 3ª ed.* (Acribia Ed).
- Benefits, H., Profile, N., Benefits, H., & Substance, A. (2013). Honey - The World's Healthiest Foods, 1–9.
- Bhandari, B., D'Arcy, B., & Camilla, K. (1999). Rheology and crystallization kinetics of honey: Present status. *International Journal of Food Properties*, 2(3), 217–226.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677–689. <https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>
- Bovo, B., Nardi, T., Fontana, F., Carlot, M., Giacomini, A., & Corich, V. (2012). Acidification of grape marc for alcoholic beverage production: Effects on indigenous microflora and aroma profile after distillation. *International Journal of Food Microbiology*, 152(3), 100–106.

- Butz, P. (2010). High Pressure: Minimal Processing. In *Encyclopedia of Agricultural, Food , and Biological* (pp. 819–821).
- Casellas, G. B. (2005). *Effect of Low Temperarute Fermentation and Nitrogen Content on Wine Yeast Metabolism. Universitat Rovira I Virgili*.
- Codex Alimentarius Commission. (2001). Codex Alimentarius Commission Standards. *Codex Stan 12-1981*, 1–8. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-88242-8>
- Considine, K. M., Kelly, A. L., Fitzgerald, G. F., Hill, C., & Sleator, R. D. (2008). High-pressure processing - Effects on microbial food safety and food quality. *FEMS Microbiology Letters*, 281(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01084.x>
- Costa, P. Z. R., Pereira, F. R., & Medeiros, L. M. S. (2016). Uso da avaliação organoléptica no auxílio à caracterização de materiais poliméricos no design de produto.
- Crane, E. (1980). *O Livro do Mel*. Nobel.
- Decreto-Lei n.º 257/1987 de 25 de Junho., 2429. Diário da República n.º 143/1987, Série I de 1987-06-25.
- Decreto-Lei n.º 214/2003 de 18 de setembro. *Diário Da República n.º 216/2003 – I Série A.*, 6060. Retrieved from <http://publicos.pt/documento/id497270/decreto-lei-214/2003>
- DIRECTIVA 2001/110/CE DO CONSELHO de 20 de Dezembro de 2001 relativa ao mel. *Jornal Oficial Das Comunidades Europeias*, 47–52.
- Farkas, D. F., & Hoover, D. G. (2000). High Pressure Processing. *Journal of Food Science*, 65(8), 47–64.
- Fauzi, N. A., Farid, M. M., & Silva, F. V. M. (2014). High-pressure Processing of Manuka Honey: Improvement of Antioxidant Activity, Preservation of Colour and Flow Behaviour. *Food Bioprocess Technol*, 7(8), 2299–2307.
- Filho, W. G. V. (2005). *Tecnologia de bebidas*. (E. E. Blucher, Ed.).
- Fleet, G. H. (1998). The microbiology of alcoholic beverages. *Microbiology of Fermented Foods*, 217–262.
- Fleur Chérie - L'OCCITANE - Sol de Primavera. (2013). Retrieved from <http://aromasdani.blogspot.pt/2013/09/fleur-cherie-loccitane-sol-de-primavera.html>
- FNAP. (2017). Mel de Rosmaninho Português. Disponível em: <http://fnap.pt/projectos/projecto-mel-de-rosmaninho-portugues/>. Acessado em: 10 de Junho de 2018.
- Fuentes, P. A. U. F. (2012). " Studies on honey from the Algarve in view of its valorization ".
- Garriga, M., Aymerich, M. T., Costa, S., Monfort, J. M., & Hugas, M. (2002). Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. *Food Microbiology*, 19(5), 509–518.

- Gomes, S. P. M. (2009). Caracterização e avaliação biológica de méis comerciais. Retrieved from <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/7656>
- Gomes, T. M. D. C. (2010). Produção de hidromel: Efeito das condições de fermentação, 1–74.
- Inácio, L., & Rodrigues, R. (2003). Boas Práticas na Colheita , Extração e Beneficiamento do Mel.
- Krell, R. (1996). *Value-Added Products From Beekeeping*. (F. A. S. B. N. 124, Ed.). Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome.
- Kuroishi, A. M., Queiroz, M. B., Almeida, M. M. De, & Quast, L. B. (2012). Avaliação da cristalização de mel utilizando parâmetros de cor e atividade de água. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15, 84–91. <https://doi.org/10.1590/S1981-67232012000100009>
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*.
- Lidon, F., & Silvestre, M. M. (2007). *Indústrias Alimentares: Aditivos e Tecnologia*.
- Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of Melissopalynology. *Bee World*, 59(4), 139–157. <https://doi.org/10.1080/0005772X.1978.11097714>
- Martínez-Monteagudo, S. I., & Balasubramaniam, V. M. (2016). Fundamentals and Applications of High-Pressure Processing Technology. In *High Pressure Processing of Food* (pp. 3–17).
- Miguel, M. G., Faleiro, L., Antunes, M. D., Aazza, S., Duarte, J., & Silvério, A. R. (2013). Antimicrobial, antiviral and antioxidant activities of “ água-mel” from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 56(February), 136–144. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.02.007>
- Ministério da Agricultura Floresta e do Desenvolvimento Rural. (2016). Programa Apícola Nacional 2017-2019, 99. Retrieved from http://www.gpp.pt/images/Programas_e_Apoios/Apoios_de_Mercado/PAN/PAN_2017-2019.pdf
- Murchie, L. W., Cruz-Romero, M., Kerry, J. P., Linton, M., Patterson, M. F., Smiddy, M., & Kelly, A. L. (2005). High pressure processing of shellfish: A review of microbiological and other quality aspects. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(3), 257–270.
- Nascimento, D. (2013). Parâmetros de avaliação da qualidade do mel e percepção do risco pelo consumidor. *Faculdade de Ciências Da Universidade Do Porto*, 76. <https://doi.org/10.1021/jf0500684>
- Navrátil, M., Sturdík, E., & Gemeiner, P. (2001). Batch and continuous mead production with pectate immobilised, ethanol-tolerant yeast. *Biotechnology Letters*, 23(12), 977–982.
- Noronha, J. F. (2003). Análise Sensorial - Metodologia, 74. Retrieved from http://www.esac.pt/noronha/A.S/Apontamentos/sebenta_v_1_0.pdf

- Oliveira, E. de S. (2001). *Características Fermentativas, Formação De Compostos Voláteis E Qualidade Da Aguardente De Cana Obtida Por Linhagens De Leveduras Isoladas De Destilarias Artesanais*.
- Oliveira, R., Sudo, J., & Resende, M. M. (2008). *Estudo dos processos de sacarificação, fermentação e destilação de cascas e pontas de mandioca no processo de obtenção de aguardente*.
- Pajuelo, A. gómez. (2004). Análises sensoriais de méis, 1–6.
- Piddocke, M. P., Kreisz, S., Heldt-Hansen, H. P., Nielsen, K. F., & Olsson, L. (2009). Physiological characterization of brewer's yeast in high-gravity beer fermentations with glucose or maltose syrups as adjuncts. *Appl Microbiol Biotechnol*, 84(3), 453–640.
- Regulamento (CE) N.º 110/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 15 de Janeiro de 2008. *Jornal Oficial Da União Europeia*, 16–54.
- Rodríguez, G. O., Ferrer, B. S., Ferrer, A., & Rodríguez, B. (2004). Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84(4), 499–502.
- Roldão, M. M. G. (2014). Altas Pressões Hidrostáticas Na Conservação De Sumo De Maçã 100 %. *Dissertação Para Obtenção Do Grau de Mestre Em Engenharia Alimentar*, 105.
- Sabino, J. (1995). *Cocktails e técnicas de bar*.
- Scriban, R. (1999). *Les industries agricoles et alimentaires*.
- Silva, A. (2015). Introdução à análise sensorial de géneros alimentícios e sua aplicação na Indústria Alimentar, 3–7.
- Silva, G. M., & Valim, J. B. (2017). Apostila de fundamentos de química experimental.
- Smelt, J. P. P. M. (1998). Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9(4), 152–158.
- Spano, N., Ciulu, M., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., ... Sanna, G. (2008). Chemical characterization of a traditional honey-based Sardinian product: Abbamele. *Food Chemistry*, 108(1), 81–85.
- Suarez, J. M. A., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3(1), 15–23.
- Subramanian, R., Hebbar, H. U., & Rastogi, N. K. (2007). Processing of honey: A review. *International Journal of Food Properties*, 10(1), 127–143. <https://doi.org/10.1080/10942910600981708>
- Teixeira, E., Meinert, E. M., & Barbeta, P. A. (1987). *Análise sensorial de alimentos* (Editora da). Florianópolis.
- Teixeira, L. V. (2009). Análise Sensorial Na Indústria De Alimentos. *Revista Do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 64(366), 12–21.

- Tosi, E., Martinet, R., Ortega, M., Lucero, H., & Ré, E. (2008). Honey diastase activity modified by heating. *Food Chemistry*, 106(3), 883–887. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.025>
- Velho, M. (2017). Mercado das bebidas espirituosas em queda apesar do elevado consumo. Retrieved from <https://www.dinheirovivo.pt/empresas/mercado-das-bebidas-espirituosas-em-queda-apesar-do-elevado-consumo/>
- Vieira, P. (2010). *Licores: segredo e Tradição*.
- Wang, X. H., Gheldof, N., & Engeseth, N. J. (2004). Effect of processing and storage on antioxidant capacity of honey. *Journal of Food Science*, 69(2).
- Zamora, M. C., & Chirife, J. (2006). Determination of water activity change due to crystallization in honeys from Argentina. *Food Control*, 17(1), 59–64.
- Zuzuarregui, A., & del Olme, M. L. (2004). Expression of stress response genes in wine strains with different fermentative behavior. *FEMS Yeast Res*, 4(7), 699–710.

CAPÍTULO II

*Avaliação da cristalização de méis submetidos ao
processo de altas pressões*

2. Avaliação da cristalização de méis submetidos ao processo de altas pressões

2.1. Introdução

Segundo o Decreto-Lei n.º 257/1987 de 25 de Junho o mel é considerado um fluido viscoso, produzido pelas abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir do néctar de flores ou das secreções provenientes de partes vivas das plantas, que as abelhas recolhem, transformam, depositam, desidratam e armazenam nos favos das colmeias.

A formação do mel resulta de duas reações principais sofridas pelo néctar, uma física ocorrida pela desidratação (eliminação da água), através da evaporação devido a temperatura na colmeia e a absorção no papo de mel (vesícula melífera) da abelha, a outra, transformando a sacarose, através da enzima invertase, em glucose e frutose. Ainda ocorrem mais duas reações, em menor escala, uma que consiste em transformar o amido do néctar, através da enzima amilase em maltose e a enzima glucose oxidase transforma a glucose em ácido glicónico e peróxido de hidrogénio (Lengler, 2001).

Sua composição, cor, aroma e sabor, varia conforme a origem floral, humidade, altitude, região e condições climáticas dos apiários. Apesar dessa variação, o mel, é uma solução supersaturada de açúcares, sendo os mais abundantes a frutose e a glucose, e em menor quantidade, outros tipos de açúcares. O conteúdo de água no mel é uma das características mais importantes, que influencia diretamente aspetos como, a viscosidade, o peso específico, o sabor, a conservação, a palatabilidade e a cristalização (Kuroishi *et al.*, 2012).

As moléculas de água presente no mel encontram-se ligadas às moléculas de açúcar, principalmente por pontes de hidrogénio. No mel não cristalizado, a glucose encontra-se ligada a cinco moléculas de água, enquanto, no mel cristalizado a glucose encontra-se ligada apenas a uma dessas moléculas, formando assim hidratos de glucose (forma sólida), conseqüentemente crescendo a quantidade de água disponível, aumentando o risco de degradação do mel por fermentação. Dessa forma, o teor de humidade no mel e sua atividade da água (a_w) são um dos principais fatores que influenciam a preservação da qualidade do produto, e a sua cristalização (Abu-Jdayil *et al.*, 2002).

Alguns méis nunca cristalizam, outros cristalizam de maneira lenta, e outros rapidamente. No entanto, todo o mel cristaliza em condições favoráveis de temperatura e da relação entre glucose, frutose e água. O primeiro açúcar que cristaliza é a glucose, portanto, méis que apresentam alto teor de glucose cristalizarão rapidamente. O mel cristalizado tende a definir uma cor mais clara/pálida do que quando líquido. Isso se deve ao fato de os cristais de glucose serem naturalmente brancos e puros (Kuroishi *et al.*, 2012).

Kuroishi *et al.* (2012) relataram a utilização da cor e da atividade da água como forma de medir a ocorrência de cristalização em méis armazenados a diferentes temperaturas e diferentes concentrações de cristais de mel adicionados.

A temperatura de armazenamento tem um grande efeito na cristalização do mel. Esta é mais rápida em torno de 10-15 °C. Em temperaturas abaixo de 10 °C a cristalização é retardada, pelo fato da baixa temperatura aumentar a viscosidade do mel e isso retarda a formação e difusão dos cristais. A temperaturas acima dos 25 °C o mel resiste melhor à cristalização. Quando a temperatura é de 40 °C, os cristais dissolveram-se e acima dos 40 °C as propriedades químicas do mel são danificadas (Anderson, 1947).

Na indústria alimentar, o mel é geralmente aquecido a 60°C, ou mais, inibindo o crescimento microbiano, facilitando o embalamento e retardando a cristalização (Bath *et al.*, 1999). No entanto, a aplicação de tratamento térmico no mel pode diminuir a atividade diastásica, relativa à enzima mais termossensível, a diástase, e aumentar o teor de hidroximetilfurfural (HMF). Estes são dois importantes parâmetros para a avaliação da qualidade do mel. Fauzi *et al.* (2014), referiram a utilização do processo de altas pressões (HPP) em mel de Manuka (*Leptospermum scoparium*), da Nova Zelândia, com pressão aplicada de 200, 400 e 600 MPa, com temperatura entre 25 a 35 °C durante intervalos de tempo de 10 a 30 min. Estes autores concluíram ser possível usar a HPP para a inativação microbiana, aumento da atividade antioxidante e preservação da cor original após o tratamento. Relativamente ao seu comportamento reológico, o tratamento de HPP não afetou significativamente a viscosidade do mel, ao contrário da combinação de HPP com tratamento térmico que reduziu a sua viscosidade para menos de metade. Embora o HPP seja denominado um processo não-térmico, existe uma relação entre a pressão e a temperatura na compressão física, devido ao aquecimento adiabático causado pela compressão do fluido em alta pressão, que pode causar uma distribuição de temperatura em todo o alimento tratado (Fauzi *et al.*, 2014). No entanto, essa alteração de temperatura durante o processo tem pouco/ou nenhum impacto sobre a qualidade do mel.

O presente trabalho teve como objetivo utilizar a análise de cor (IB, ΔL^*) e da atividade da água (a_w) para determinar a evolução da cristalização de três diferentes tipos de méis, submetidos a três diferentes ciclos do Processamento de Altas Pressões (HPP) e armazenadas em três diferentes temperaturas.

2.2. Materiais e Métodos

2.2.1. Amostras e Embalagem

Foi utilizado dois méis monoflorais (laranjeira e rosmaninho) e um multifloral. Uma quantidade de 400 g de cada mel foi embalado em quadruplicado, em garrafas de polietileno transparentes de 325 cm³ (figura 7) de base quadrada (5 cm x 5 cm).



Figura 13 - Embalagens de mel submetidas á altas pressões

2.2.2. Equipamento de processamento de alta pressão

A unidade de HPP usada nesta pesquisa foi o AV-10 (Avure Technologies, Columbus, OH, EUA). O equipamento consiste numa câmara de tratamento de pressão cilíndrica com capacidade para processar 4.500.000 kg por ano, munido de termopar, circulação de água, sistema de bombeamento e sistema de controlo operado por computador. O equipamento é ideal para processar alimentos de pequeno volume, e processa os alimentos a uma pressão de água extremamente alta (até 6.000 bar).

2.2.3. Metodologia

Para o estudo, utilizámos mel Multifloral (M), Rosmaninho (R), e Laranjeira (L). Os três tipos de méis foram submetidos a três diferentes binómios tempo e pressão, 520 MPa durante 180 segundos, 550 MPa durante 150 segundos, 2 vezes 520 MPa durante 150 segundos e o Controlo (sem aplicação de pressão). Em seguida cada combinação foi armazenada a três temperaturas diferentes, 11 °C, temperatura ambiente (± 21 °C) e 30 °C.

A Tabela 4 apresenta a codificação de cada amostra, segundo os parâmetros referidos anteriormente.

Tabela 4 – Codificação das amostras de mel

Mel	Pressão (MPa)	Tempo (s)	Temperatura de armazenamento		
			11 °C	21 °C (temperatura ambiente)	30 °C
Mcontrole	-	-	Mcontrole ₁₁	Mcontrole _{TA}	Mcontrole ₃₀
M1	520	180	M1 ₁₁	M1 _{TA}	M1 ₃₀
M2	550	150	M2 ₁₁	M2 _{TA}	M2 ₃₀
M3	520	2 × 150	M3 ₁₁	M3 _{TA}	M3 ₃₀
Lcontrole	-	-	Lcontrole ₁₁	Lcontrole _{TA}	Lcontrole ₃₀
L1	520	180	L1 ₁₁	L1 _{TA}	L1 ₃₀
L2	550	150	L2 ₁₁	L2 _{TA}	L2 ₃₀
L3	520	2 × 150	L3 ₁₁	L3 _{TA}	L3 ₃₀
Rcontrole	-	-	Rcontrole ₁₁	Rcontrole _{TA}	Rcontrole ₃₀
R1	520	180	R1 ₁₁	R1 _{TA}	R1 ₃₀
R2	550	150	R2 ₁₁	R2 _{TA}	R2 ₃₀
R3	520	2 × 150	R3 ₁₁	R3 _{TA}	R3 ₃₀

Todas as amostras foram armazenadas durante 75 dias e analisadas quinzenalmente.

2.2.4. Atividade da água

A atividade da água foi determinada à 21°C, temperatura ambiente do laboratório de laticínios da Escola Superior Agrária de Coimbra, usando um medidor de atividade da água (CRHC-015-006 Labbox Porcelain, Espanha). Cada amostra permaneceu no medidor durante no mínimo 30 minutos para que o valor do pH se estabilizasse.

2.2.5. Cor

A cor de cada amostra foi determinada por meio de um colorímetro (Konica Minolta, CR-200b, Japão), controlado por um computador que calcula os parâmetros da cor a partir do espectro de refletância. As amostras de mel foram colocadas em pequenas placas de Petri descartáveis (60 mm de diâmetro com altura de 10 mm de mel) e colocadas por cima de uma placa padrão branca. A cabeça de medição foi inserida diretamente na amostra e a refletância da superfície do mel foi medida. As coordenadas de cor CIELab determinadas foram L* (luminosidade), a* (vermelho/verde), b* (amarelo/ azul). A medição da cor de cada amostra foi feita em triplicado. Antes da realização de cada análise, efetuou-se a calibração do aparelho de medida.

Para verificar a influência da temperatura e da pressão aplicada foi tomada como referência a variação do parâmetro de luminosidade ΔL^* . O ΔL^* foi obtido pela diferença entre o L* no tempo inicial de armazenamento e no tempo final de armazenamento (75 dias). Também foi analisada a evolução do Índice de Brancura (IB) com o tempo de armazenamento. Esse índice é uma conversão dos parâmetros de L*, a* e b*, sendo calculado segundo a equação, o fato de que a presença de cristais no sistema, mesmo

que quase impercetíveis a olho nu, provoca certa opacidade nas amostras, refletida pelo aumento do IB. (Grunennvaldt, 2009):

$$IB = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5}$$

Equação 5

2.3. Resultado e Discussão

As Figuras 8, 9 e 10 mostram os resultados para a atividade da água e a cor do mel multifloral armazenados nas diferentes temperaturas, 11 °C, temperatura ambiente (21 °C) e 30 °C respectivamente, durante 75 dias e sua evolução com o tempo.

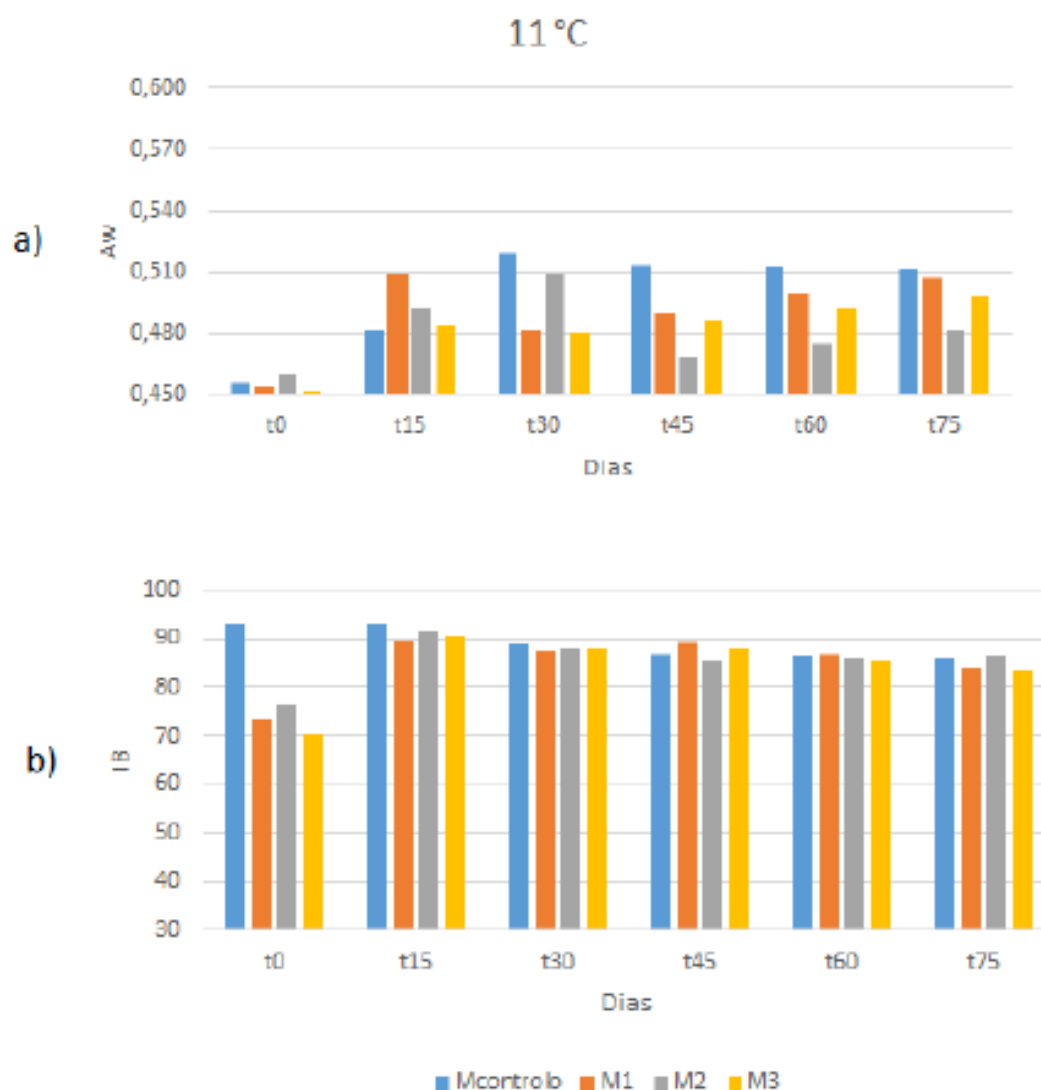


Figura 14 - Resultados das análises do mel multifloral armazenado a 11°C referente a aw e o IB..

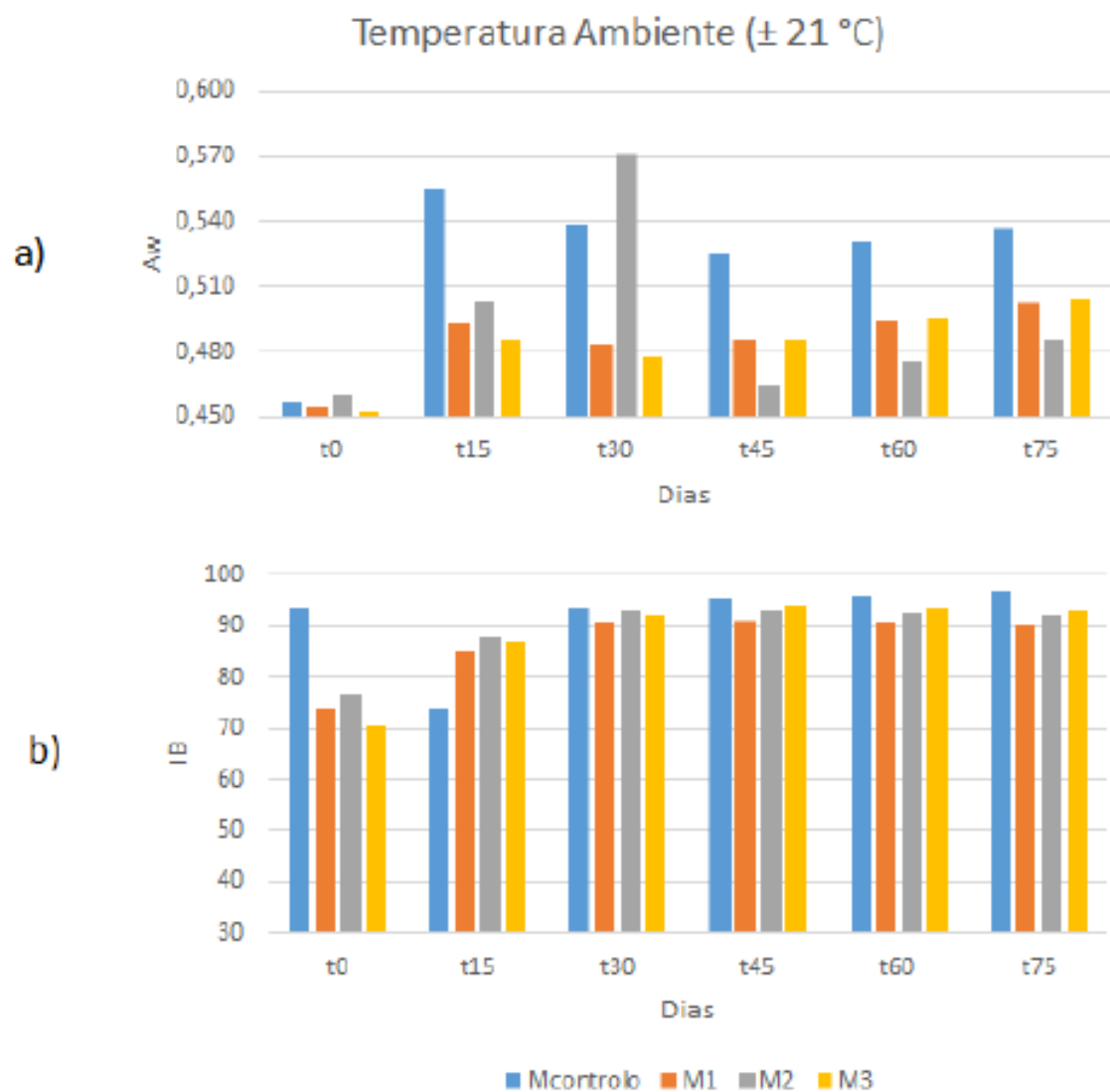


Figura 15 - Resultados das análises do mel multifloral armazenado a temperatura ambiente (21°C) referente a a_w e o IB.

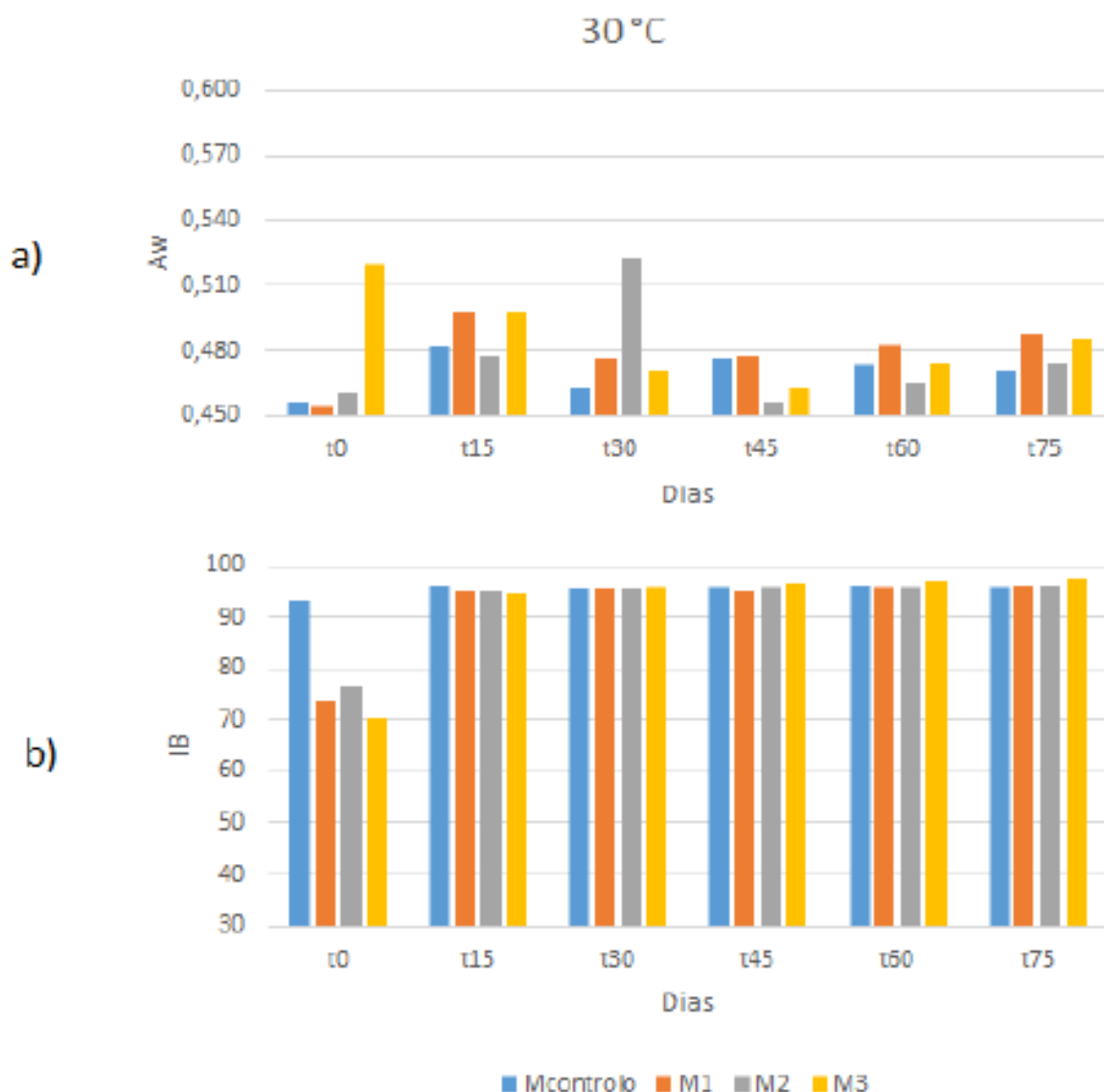


Figura 16 - Resultados das análises do mel multifloral armazenado a 30°C referente a aW e o IB.

Como podemos verificar nas figuras 8, 9 e 10 em a) o aW inicial nas amostras de mel multifloral variou de 0,452 a 0,460, estando próximo a variação de 0,479 a 0,560 para méis de flores obtidos por Abramovic *et al.* (2008) em 150 amostras de mel da Eslovênia. Portanto, uma vez que as leveduras homofílicas só são capazes de crescer acima da atividade de água mínima de 0,600, os méis analisados devem ser considerados inicialmente seguros em relação à fermentação. Níveis baixos de atividade da água servem também para o mel se manter estável e prevenir a cristalização durante o armazenamento (Olaitan *et al.*, 2007).

É possível observar uma tendência do aumento da atividade da água ao longo do tempo de armazenamento sendo mais acentuado nas amostras armazenadas à temperatura ambiente (21°C) e a 11°C. Esse resultado sugere que em temperaturas abaixo da temperatura ambiente a cristalização é favorecida, ocasionando um aumento

da atividade da água, porque parte dos sólidos solubilizados no sistema agregam-se na forma de cristais, liberando água e tornando a fase líquida menos concentrada, o que faz aumentar a atividade da água.

Ao final de 75 dias de armazenamento, o maior valor obtido de aW foi 0,537, para o mel armazenado à temperatura ambiente sem o tratamento de altas pressões.

Os méis multiflorais sujeitos a altas pressões que foram submetidas a 550 MPa durante 150 segundos, apresentaram menores variações dos valores de aW.

Quando o mel cristaliza, observam-se mudanças na sua coloração (Lengler, 2001). A presença de cristais no sistema, mesmo que quase impercetíveis a olho nu, provoca certa opacidade nas amostras, refletida pelo aumento do IB (Costa *et al.*, 2015). Na figura 11, pode-se observar pouca variação entre os resultados, e Lcontrole inicial indica um provável erro de amostragem nessa leitura, mas no geral, é possível observa o aumento do IB, como seria de esperar devido à cristalização.

A figura 11, 12 e 13 representam os resultados de aW e índice de brancura para as amostras de mel de laranjeira sujeitas ao processo de altas pressões como referido no ponto 2.2.3.

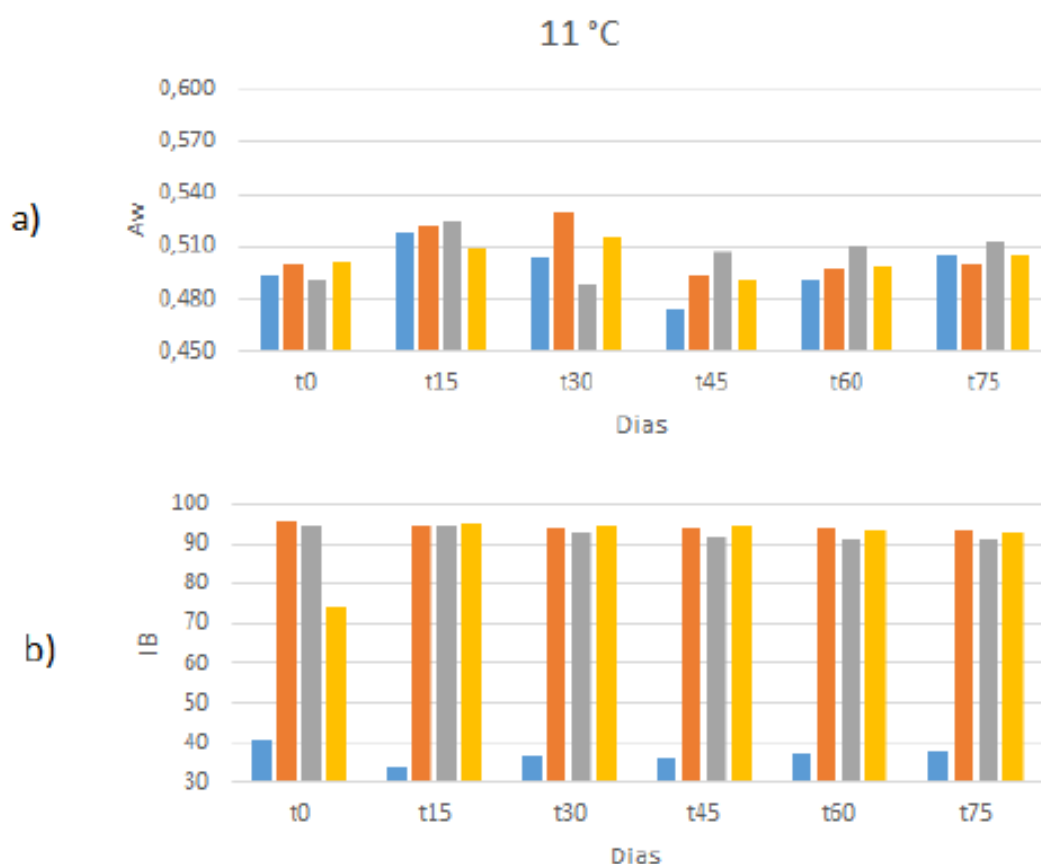


Figura 17 - Resultados das análises do mel de laranjeira armazenado a 11°C referente a aW e o IB

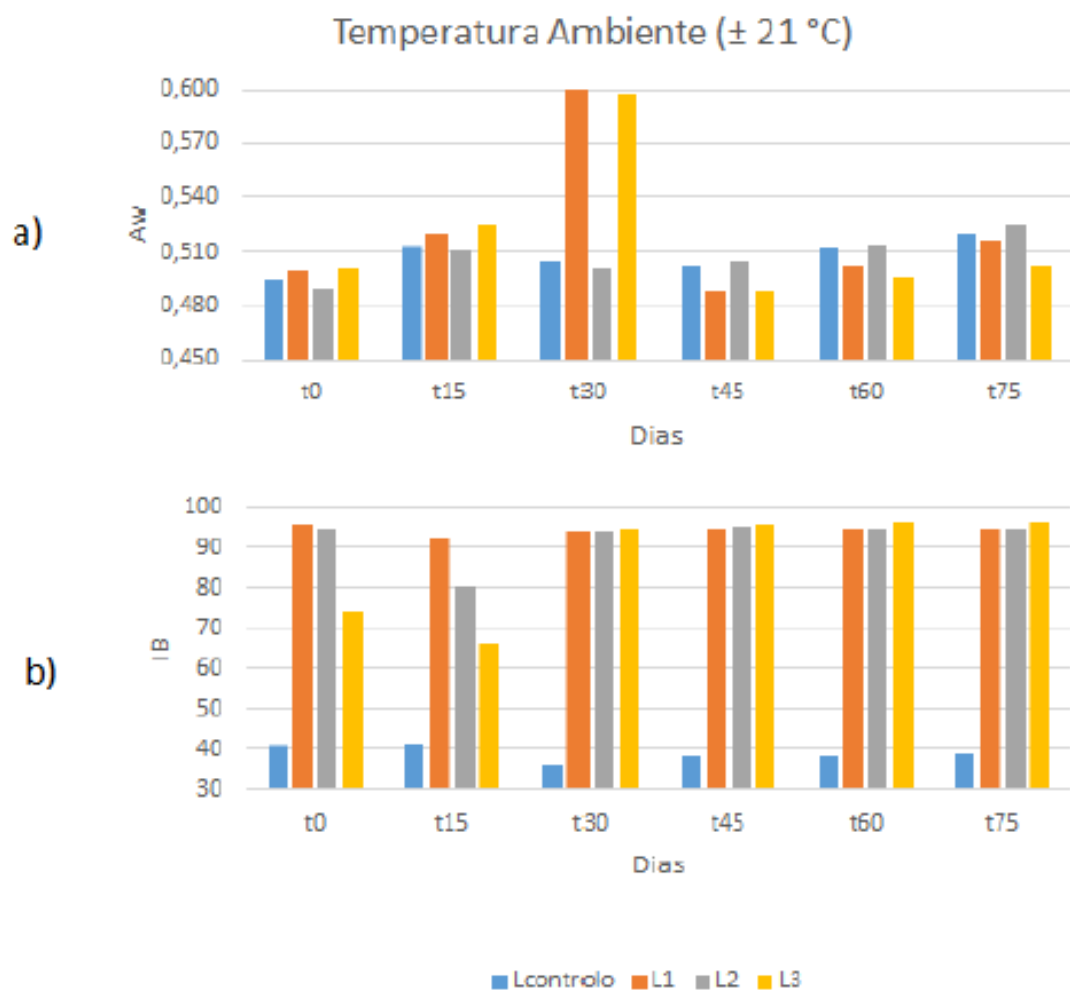


Figura 18 - Resultados das análises do mel de laranjeira armazenado a temperatura ambiente (21°C) referente a a_w e o IB.

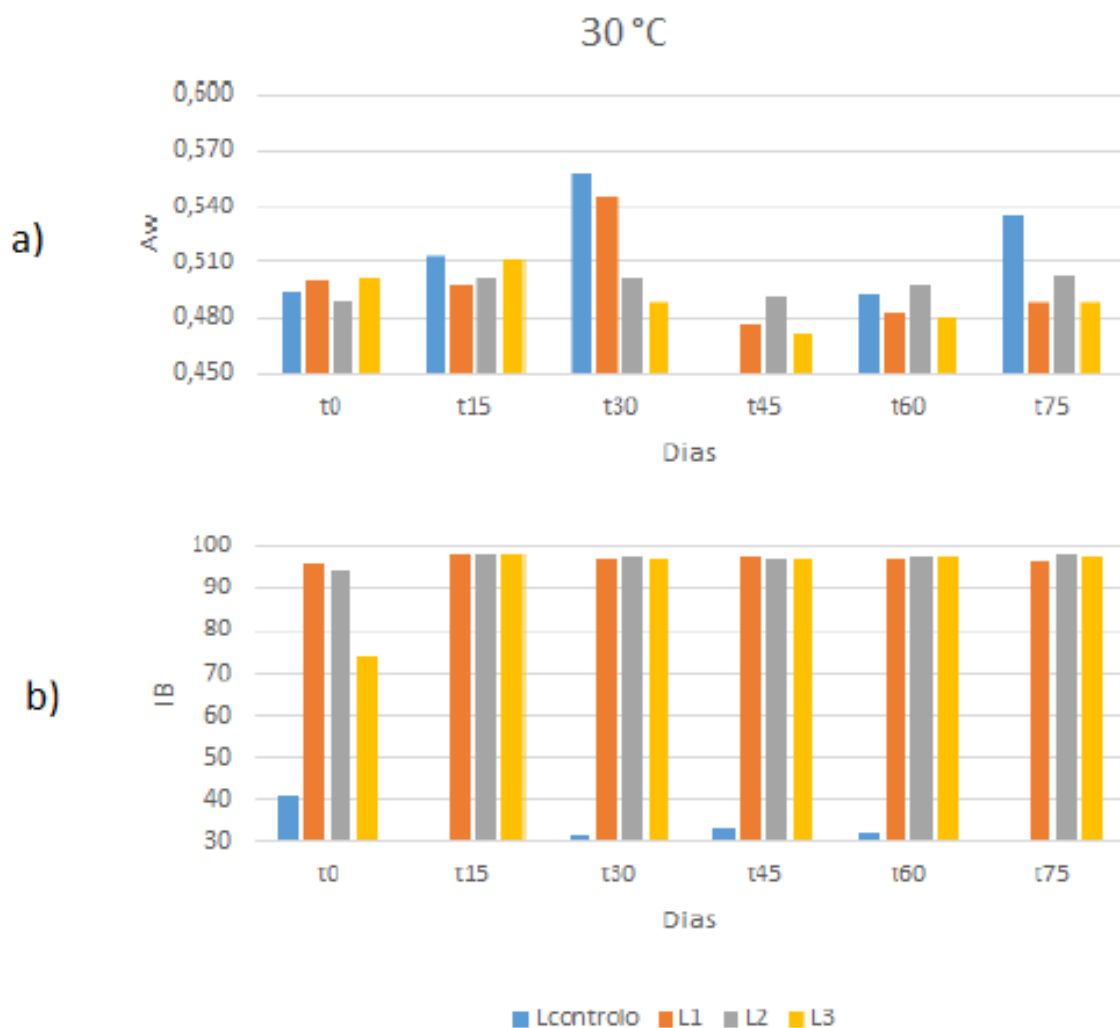


Figura 19 - Resultados das análises do mel de laranjeira armazenado a 30°C referente a a_w e o IB

Na figura 13, Lcontrole apresentou valores tão baixos que se tornam imperceptíveis no gráfico.

Na figura 11, 12 e 13 em a) foi possível verificar um pequeno aumento da a_w em todas as amostras, exceto L1 a 30°C e L3 a 30°C. Sendo menos acentuada nas amostras tratadas com 520 MPa durante 180 segundos e a 2× 520 MPa durante 150 segundos.

Em todo o caso, como o mel de laranjeira apresenta alto teor de frutose pode levar mais de 12 meses para cristalizar (Lengler, 2001). Então seria imprescindível, avaliar a cristalização deste tipo de mel por um maior período de tempo, para observar resultados conclusivos quanto ao efeito do processo de altas pressões.

Com relação ao resultado obtido no índice de brancura, há pouca oscilação dos resultados, como podemos verificar no ponto b) das figuras 11, 12 e 13, e os valores de Lcontrole, em todas as temperaturas de armazenamento tende a manter-se constante ao longo do tempo.

Na figura 14, 15 e 16 podemos verificar os resultados das amostras de mel de rosmaninho para os mesmos parâmetros analisados no mel de laranja e multifloral.

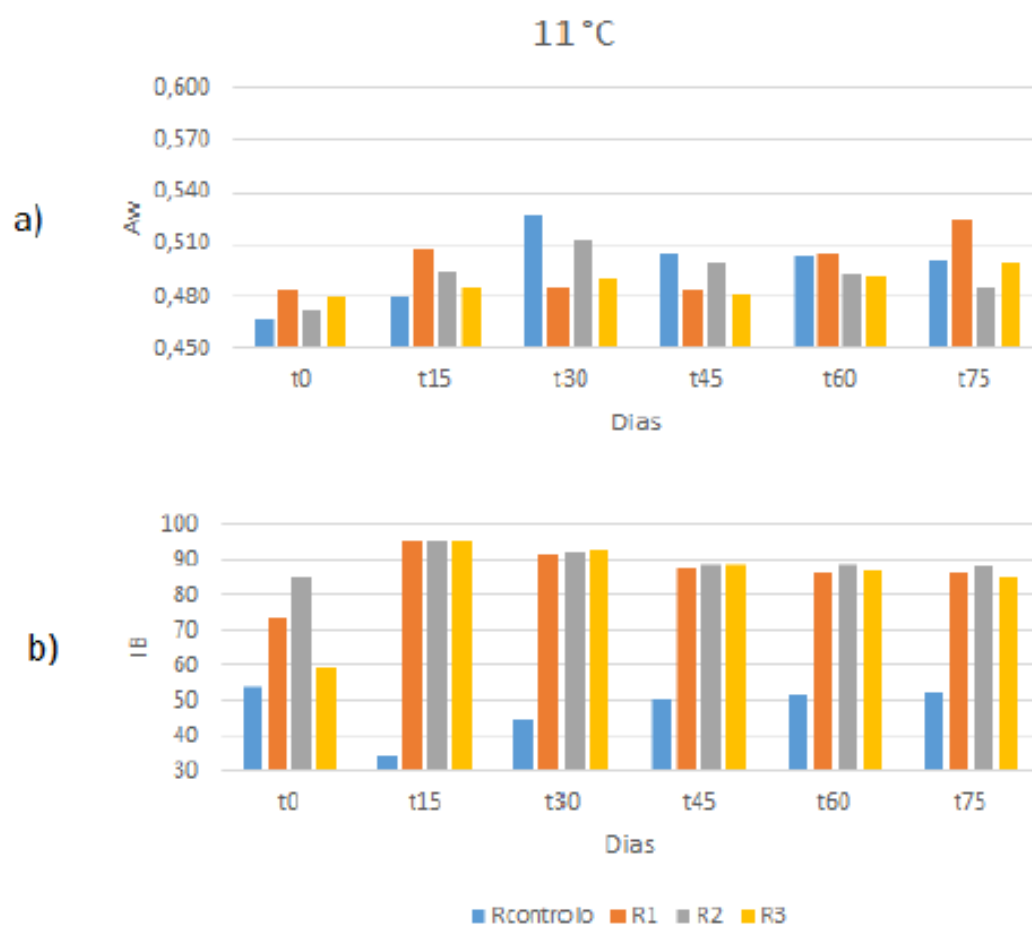


Figura 20 - Resultados das análises do mel de rosmaninho armazenado a 11°C referente a a_w e o IB

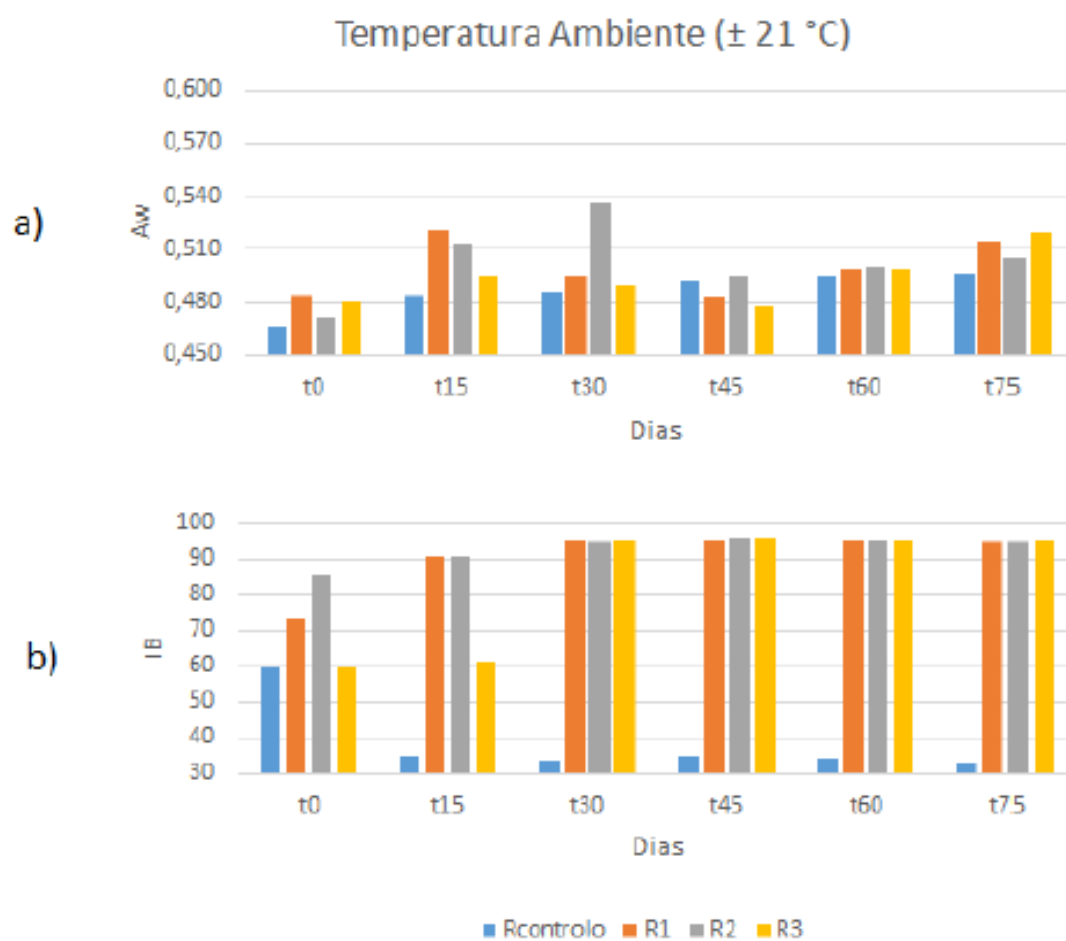


Figura 21 - Resultados das análises do mel de rosmaninho armazenado a temperatura ambiente (21°C) referente a a_w e o IB.

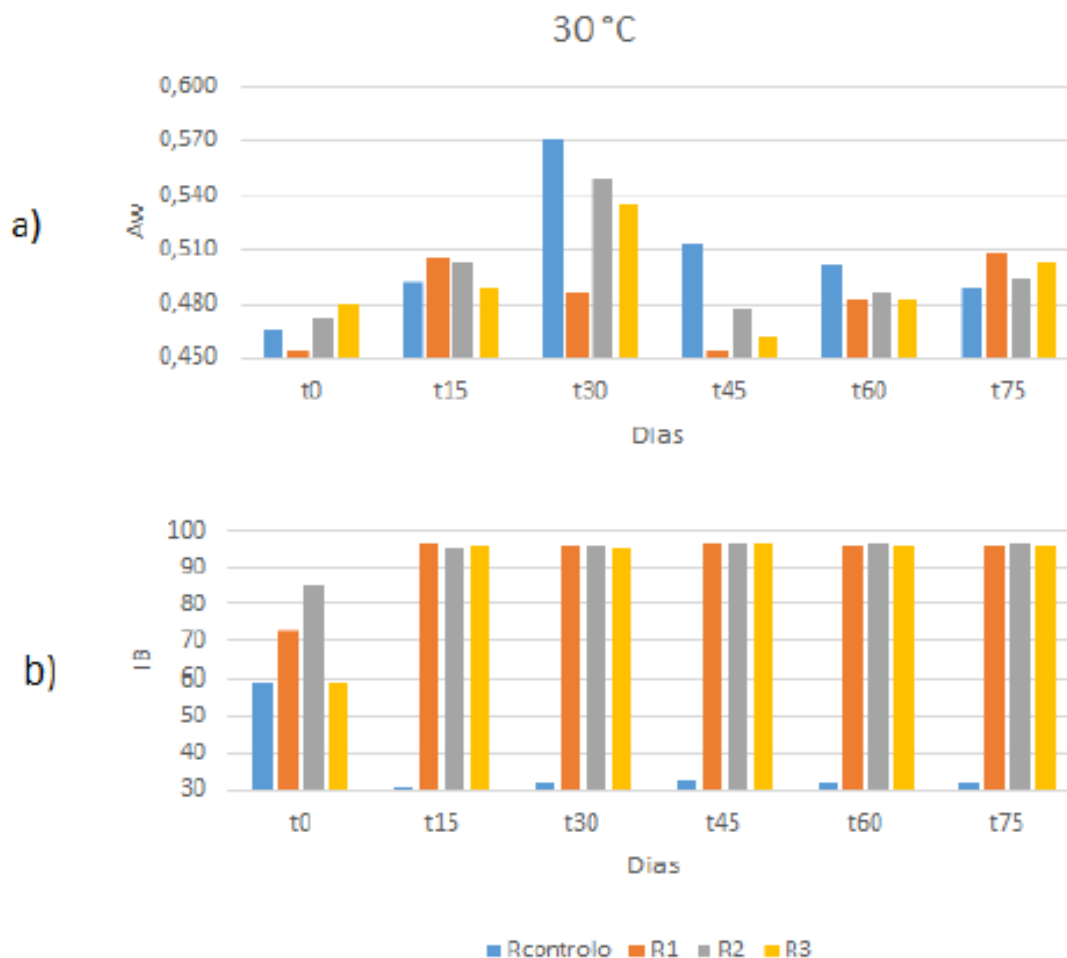


Figura 22 - Resultados das análises do mel de rosmaninho armazenado a 30°C referente a a_w e o IB

A a_w do mel de rosmaninho apresenta um comportamento muito divergente entre si, como podemos verificar na figura 14, 15 e 16, com grande oscilação ao longo do tempo. No entanto os últimos valores lidos da a_w para o mel de rosmaninho mostram valores superiores do que o a_w em todas as temperaturas e amostras.

O IB nas amostras de mel de rosmaninho apresenta resultados divergentes dos resultados da a_w nas mesmas amostras, que relaciona os parâmetros estudados (a_w e IB) com a cristalização do mel, indicando não haver um comportamento definido, isso pode ser explicado provavelmente pela separação de fases do mel durante a cristalização, como podemos verificar na Figura 17. Isso pode explicar também os resultados obtidos nos outros tipos de mel em estudo.



Figura 23 - Mel cristalizado

No entanto, Kuroishi *et al.* (2012) demonstram uma tendência para o Índice de Brancura e a a_w aumentar em amostras armazenadas por 3 semanas a temperaturas de 11 °C e 21 °C, sendo este aumento devido à formação de cristais no mel. Esses resultados reforçam o uso do Índice de Brancura como uma indicação da presença de cristais em amostras de mel.

Observando-se a evolução visual do mel e os resultados obtidos pela a_w nas amostras estudadas, sugere-se a repetição das análises de cor das amostras em estudo, propondo uma melhor agitação da amostra, para homogeneização completa das fases do mel e também um armazenamento prolongado, de forma a confirmar o efeito da pressão aplicada no mel assim como a temperatura de armazenamento.

2.4. Conclusão

Apesar de baixa, observou-se um aumento da atividade da água (a_w) à medida que ocorre a cristalização do mel, indicando que esse parâmetro pode ser usado para o controle da cristalização.

O uso da análise da cor pelo sistema CIELab e a conversão dos parâmetros de L^* , a^* e b^* para o Índice de Brancura (IB) pode ser uma ferramenta complementar para a monitorização da cristalização no mel, dessa forma, seria necessário aprimorar e repetir os testes realizados.

Quanto ao tratamento do mel por altas pressões, não foi possível verificar influência no processo de cristalização. No entanto, mesmo que não significativa, o mel multifloral e

de rosmaninho apresentaram menor variação da a_w nas amostras submetidas a 550 MPa 150 segundos, e no mel de laranjeira nas amostras submetidas 2×520 MPa 150 segundos.

Os resultados obtidos pelas análises indica possíveis erros de leitura tanto na a_w quanto no IB. Primeiramente a preparação das amostras para o HPP deveria ser alterada, para que para cada análise realizada tenha uma embalagem com as amostras tratadas que só seja aberto antes de cada análise, garantindo que o meio envolvente das amostras não seja alterado a cada 15 dias quando as embalagens eram abertas para retirar amostras. As leituras de a_w devem ser realizadas em triplicado para podermos excluir quaisquer erros de leitura e medir uma média e um desvio padrão para cada amostra.

Para medir a cor das amostras, a utilização de um recipiente de quartzo é importante para que não haja qualquer tipo de reflexão da luz, alterando os valores medidos, além de um acompanhamento visual mais detalhado das amostras, de forma a podermos comparar os resultados das análises realizadas no colorímetro

2.5. Referências Bibliográficas

- Abramovic, H., Burkan, L., Jamnik, M., & Kac, M. (2008). Water activity and water content in Slovenian honeys. *Food Control*. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.11.008>
- Abu-Jdayil, B., Ghzawi, A. A.-M., Al-Malah, K. I. M., & Zaitoun, S. (2002). Heat effect on rheology of light - and dark - colored honey. *Journal of Food Engineering*, 51(1), 33–38.
- Anderson, E. J. (1947). Controlled crystallization of honey. *Journal of Economic Entomology*, 40(1), 55–57. <https://doi.org/10.1093/jee/40.1.55>
- Bath, P. K., & Singh, N. (1999). A comparison between *Helianthus annuus* and *Eucalyptus lanceolatus* honey. *Food Chemistry*, 67(4), 389–397.
- Costa, L., Kaspchak, E., Queiroz, M. B., Almeida, M. M., Quast, E., & Quast, L. B. (2015). *Influence of temperature and homogenization on honey crystallization*. *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(2).
- Decreto Lei n 257 1987 de 25 de Junho, 2429. *Diário da República n.º 143/1987, Série I de 1987-06-25*.
- Fauzi, N. A., Farid, M. M., & Silva, F. V. M. (2014). High-pressure Processing of Manuka Honey: Improvement of Antioxidant Activity, Preservation of Colour and Flow Behaviour. *Food Bioprocess Technol*, 7(8), 2299–2307.
- Grunennvaldt, F. L. (2009). *Avaliação de propriedades físicas e sensoriais e do desempenho tecnologico de chocolates produzidos com misturas de manteiga de cacau e gorduras low / zero trans*.
- Kuroishi, A. M., Queiroz, M. B., Almeida, M. M. De, & Quast, L. B. (2012). Avaliação da cristalização de mel utilizando parâmetros de cor e atividade de água. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15, 84–91. <https://doi.org/10.1590/S1981-67232012000100009>
- Lengler, S. (2001). *Inspeção e Controle da Qualidade do Mel*. Universidade Federal de Santa Maria.
- Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., & Ola, I. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *Sciences, African Health*, 7(3), 159–165.

CAPÍTULO III

*Produção de Melosa:
Efeito das condições de fermentação da aguardente
de mel utilizada*

3. Produção de Melosa: efeito das condições de fermentação da aguardente de mel utilizado

3.1. Introdução

3.1.1. Mel e seus subprodutos

O mel é um produto natural utilizado pelo homem há séculos. Atualmente a produção de mel tem impactos significativos e positivos, tanto sociais como económicos. Além do mel, na produção apícola, o produtor poderá rentabilizar outros produtos como a cera, utilizada nas indústrias de cosméticos, medicamentos e velas, o própolis e a geleia real, na indústria de cosméticos, farmacêutica e alimentar, o pólen devido ao seu alto valor nutritivo, é usado como suplemento alimentar e a apitoxina (veneno das abelhas) é utilizado como medicamento antirreumático.

Já há algum tempo os apicultores em Portugal, principalmente do Sul (Algarve e Alentejo), obtêm também um produto à base de mel conhecido como “água-mel”. Conseguido a partir da apuração da cera, que é feita após extração do mel dos quadros, toda a cera é submetida a um processo de lavagem com água quente que faz com que todo o mel e sujidade incorporada durante o ciclo de produção se separe e a cera possa ser utilizada novamente. A água utilizada nesse processo, com substancial quantidade de mel, própolis, pólen e pequenas sujidades da colmeia é fervida durante algumas horas até obter um produto final de cor castanha escura, chamado de “água-mel”.

3.1.2. Aguardente de mel

Segundo o Regulamento (CE) Nº 110/2008 entende-se por aguardente de mel uma bebida espirituosa, obtida exclusivamente por fermentação e destilação de mosto de mel. É destilada com um teor de álcool até 86 % vol., de modo a que o destilado apresente as características organoléticas da matéria-prima utilizada. O título alcoométrico volúmico mínimo da aguardente de mel é de 35% vol. a 20 °C.

A via fermentativa de produção de etanol a partir de um mosto está baseada na atividade metabólica das leveduras sobre uma matéria-prima açucarada. No entanto, a quantidade de leveduras existente no mel não é suficiente para consumir todos os açúcares presentes. Por essa razão são utilizadas leveduras da estirpe de *Saccharomyces cerevisiae*. Após o consumo da sacarose, as leveduras podem utilizar outros açúcares, tais como a glucose ou a frutose. Dessa forma, é essencial a análise da resistência ao *stress* das leveduras para que todos os açúcares sejam consumidos e a rendimento na produção de etanol seja maior.

De todos os nutrientes assimilados pelas leveduras durante a fermentação, os compostos azotados são quantitativamente os mais importantes, depois dos compostos carbonados. O aumento da concentração de etanol e o uso das fontes de azoto pelas

leveduras durante o processo de fermentação alcoólica, pode conduzir a uma carência de azoto e à consequente entrada em *stress* das leveduras. Um fornecimento inadequado de azoto assimilável durante a fermentação pode levar ao crescimento deficiente das leveduras, a fermentação prolongada, a taxa de crescimento reduzida e consequentemente a um decréscimo da produtividade. E ainda, a qualidade sensorial do produto pode deteriorar-se devido ao catabolismo de aminoácidos e péptidos causando a formação de sulfeto de hidrogénio (H₂S), de determinados ésteres e de padrões alterados de diacetio. A degustação contínua do mosto é o melhor método para detetar a presença de H₂S. Normalmente, as substâncias à base de amónia são usadas como suplementos nutricionais que ajudam a reduzir a perceção dessas substâncias a curto prazo, facilitam a restauração da fermentação e promovem o crescimento da biomassa (O'Connor-Cox *et al.*, 1991).

A destilação deve ser lenta e controlada, com uma temperatura ideal de 85 a 92 °C. Para que se tenha uma aguardente de qualidade, é imprescindível separar as frações cabeça e cauda.

3.1.3. Melosa

Este trabalho teve como principal objetivo a utilização da água-mel para a produção de aguardente de mel, especificamente para a utilização de Melosa, que é um licor de mel, tradicional da serra Algarvia. Efetivamente, com o presente trabalho pretendeu-se:

1. Avaliar o efeito da temperatura, da estirpe de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*), da quantidade de nutrientes e grau Brix inicial da água-mel no processo de fermentação do mosto de água-mel;
2. Controlar o processo de destilação, e avaliar o do produto obtido;
3. Produzir Melosa a partir da aguardente de mel confeccionada.
4. Comparar a utilização de três tipos diferentes de aguardente (aguardente vínica, bagaceira e álcool alimentar) e o seu possível impacto na qualidade sensorial.

3.2. Material e Métodos

3.2.1. Fermentação

Foram realizadas quatro diferentes composições de mosto, todas em duplicado, variando a relação entre quantidade de mel, água e água-mel com objetivo de variar o °Brix inicial do mosto (entre 15 - 30 °Brix) e com diferentes concentrações de nutrientes (Enovit®, concentrações 40 g/hL e 90 g/hL), para verificar o impacto no rendimento da fermentação. Em todos os fermentadores foram adicionados 40 g/hL de leveduras da estirpe *Saccharomyces cerevisiae*. Por fim foi adicionado em todos os mostos, ácido tartárico até se obter um pH uniforme de 3,5. Em todos os ensaios do presente trabalho

foi utilizado mel multiflora e/ou água-mel e leveduras enológica comercial Fermol Complet Killer®, que foram as utilizadas na produção de hidromel por Pereira *et al.* (2008) e Gomes (2010).

A Tabela 5 apresenta a codificação de cada fermentador, segundo os parâmetros referidos anteriormente.

Tabela 5 – Codificação e composição de cada fermentador

Ferment.	°Brix	[Leveduras] Fermol Complet Killer®	[Nutrientes]		Mel (L)	Água (L)	Água-Mel c/ 12 °Brix (L)	Volume total (L)
	Inicial		(Enovit®) Inicial	(Fermolplus H ₂ S free®) *				
A1 e A2	15	40 g/hL + 40 g/hL	60 g/hL	30 g/hL	1,3	7,1	-	8,4
B1 e B2	30	40 g/hL + 40 g/hL	60 g/hL	30 g/hL	2,18	6,22	-	8,4
C1 e C2	25	40 g/hL + 90 g/hL	90 g/hL	30 g/hL	1,75	3,7	2,75	8,2
D1 e D2	25	40 g/hL + 40 g/hL	60 g/hL	30 g/hL	1,80	4,1	2,50	8,4

Inicialmente o mosto foi preparado através da diluição do mel em água e aquecido para uma melhor homogeneização da mistura, no final adicionou-se ácido tartárico até se obter um pH de 3,5.

Seguindo as instruções da embalagem, a levedura foi hidratada em água açucarada (50 g/hL) e colocada em banho-maria a 37 °C durante vinte minutos para o arranque inicial da fermentação. Depois de previamente hidratada foi adicionada ao meio de crescimento. Desta forma iniciou-se a fermentação que decorreu à temperatura média de 25 °C por aproximadamente 30-43 dias.

Quando a massa volúmica atingiu entre 1,030 – 1,020 g/L nas amostras, adicionou-se 30 g/hL de nutrientes Fermolplus H₂S free® para facilitar a remoção de sulfeto de hidrogénio durante a fermentação e para prevenir nova formação. Este nutriente apresenta mecanismos de ação de aminoácidos específicos e ácidos gordos ómega-3 que criam fluidez da membrana reativa e facilitam o processo de fermentação. Aproveitou-se a abertura dos fermentadores para inocular mais leveduras, devido à quantidade de açúcar ainda existente no mosto.

A fermentação em escala laboratorial realizou-se em fermentadores de dez litros de capacidade (Figura 12).



Figura 24 - Fermentadores onde decorreram as fermentações à escala laboratorial.

3.2.1.1. Determinação dos parâmetros físico-químicos dos fermentados

Durante a fermentação, o pH, temperatura e °Brix foram monitorizados e registados diariamente. Provou-se todos os dias as amostras após as análises físicas e químicas. Todas as análises foram realizadas em triplicado.

Determinação do teor de sólidos solúveis totais (°Brix): O resíduo seco solúvel foi determinado de acordo com a Norma Portuguesa 785 (1985). Colocou-se 1 gota de amostra no centro do prisma do refratómetro portátil (ATAGO, modelo FG-113, Japão) e fez-se a leitura do °Brix. Utilizou-se também um refratómetro digital (HANNA, HI 96813, Portugal) para comparação dos resultados.

Determinação do pH: Utilizando um potenciómetro (Crison, modelo microPH 2002, Suíça) acoplado a um eléctrodo de pH. Antes da determinação do pH de cada amostra o aparelho foi calibrado utilizando duas soluções padrão, uma com pH 4 e outra com pH 7.

Monitorização das temperaturas: A temperatura foi medida com um termómetro de vidro com escala graduada entre 0 e 50 °C, colocando o termómetro dentro do recipiente das amostras e aguardando alguns minutos.

Uma vez concluída a fermentação, isto é, quando quase todo o açúcar foi transformado em álcool ou quando o °Brix não se alterar durante alguns dias consecutivos, ou até mesmo quando o produtor pretender. Deve-se deixar o fermentado descansar por aproximadamente 2 a 4 dias. Após esse descanso. Deve-se transferir o fermentado para a etapa seguinte denominada destilação.

3.2.2. Destilação

A destilação consistiu em aquecer o fermentado num alambique de cobre Charantais de 16 L de capacidade. Colocou-se o mosto fermentado na caldeira, onde foi aquecido até ao ponto de ebulição. O aumento da temperatura deve ser lento e controlado, até aos 85-92 °C. A fração evaporada foi conduzida através do capitel para a serpentina, mergulhada num recipiente com água fria corrente, que fez com que a mistura alcoólica arrastada condensasse, dando origem à aguardente de mel.

Para que se tenha uma aguardente de qualidade, recolheu-se e separou-se a fração inicial e final do destilado. A primeira parte, denominada por “cabeça”, equivale a 10% do destilado inicial e apresenta um aroma forte e desagradável a acetato de etilo. E a final denominada por “cauda” que é pobre em etanol, pode ser considerada os 10% finais do destilado. Restando somente 80%, a fração denominada de “coração”, que representa a melhor parte do destilado sendo a usualmente comercializada como aguardente de mel.

3.2.3. Produção do licor Melosa

A transformação/confeção dos licores foi realizada nas instalações do laboratório dos Hortofrutícolas, local de produção da aguardente de mel.

De forma sucinta, procedeu-se à produção da Melosa, misturando o mel, a água, o limão e as especiarias numa panela. Após a fervura, deixou-se durante 1 hora em lume brando. Após esse tempo, retirou-se a mistura do lume esperou-se que arrefecesse e em seguida adicionou-se a aguardente de forma a obter um produto final com 21,6 % vol. de teor alcoólico.

Comercialmente as poucas Melosas vendidas no mercado são produzidas a partir da aguardente de medronho. Em alternativa, neste estudo, foram produzidas Melosas, com três diferentes produtos alcoólicos (vínica, aguardente de água-mel obtida no presente trabalho e álcool alimentar), avaliando-se posteriormente a influência do tipo de álcool utilizado na produção nas características do produto final, realizando um teste de análise sensorial para avaliar a preferência do potencial consumidor.

A análise estatística dos resultados obtidos na análise sensorial foi feita através do Teste de Friedman a partir de um teste de ordenação simples, permitindo comparar os resultados de cada provador. Pretendeu-se verificar qual das amostras obtém melhor classificação (ordenação) em relação à preferência quanto ao sabor e ao odor.

3.3. Resultados e discussão

3.3.1. Controlo analítico da fermentação

Procedeu-se à escolha das diferentes concentrações de leveduras, nutrientes e °Brix inicial para que fosse possível verificar as concentrações ideais para um maior

rendimento da produção de destilado final. Com os níveis estabelecidos para as variáveis em questão dos fermentadores A, B e C podemos verificar na Tabela 6 a influência do °Brix inicial na performance fermentativa em cada modalidade de ensaio. O tempo de permanência em cada fermentador variou entre 30 e 45 dias (T_{fina}).

Tabela 6 - Resultado da fermentação alcoólica

	Inicial	Final	[Leveduras] g/hL	[Nutrientes] g/hL	Teor alcoólico % vol. ($\bar{x} \pm dp$)	
A	T0 = 15	T43 = 9,6	80	90	7,15 \pm	1,34
B	T0 = 30	T43 = 25,55	80	90	6,2 \pm	0,28
C	T0 = 25	T30 = 10,85	130	120	15 \pm	0,14
D	T0 = 25	T45 = 16,65	80	90	7 \pm	0,42

Os fermentadores C de 25 °Brix_{inicial}, ao fim do processo de fermentação, apresentaram uma graduação alcoólica duas vezes maior (15 \pm 0,14 % vol.) do que os fermentadores A (15 °Brix), B (30 °Brix) e C (25 °Brix) (7,15 \pm 1,34 % vol.; 6,2 \pm 0,28 % vol. e 7 \pm 0,42 % vol. respectivamente). No entanto, a concentração de leveduras e nutrientes adicionados nos fermentadores C foi diferente dos A e B. Dessa forma, pareceu ser adequado igualar as quantidades de leveduras (80 g/hL) e nutrientes (90 g/hL) adicionados, permitindo avaliar se o aumento das concentrações é de fato necessário para se obter uma maior graduação alcoólica no mosto. Avaliando os resultados encontrados nos fermentadores D, verificou-se que houve influência do °Brix inicial do mosto e da concentração de leveduras e nutrientes adicionadas durante o processo de fermentação alcoólica.

O rendimento da fermentação nos mostos C, mostraram melhores resultados nos mostos com 25 °Brix_{inicial} e com a adição de 130g/hL de leveduras (Fermol Complet Killer®) e 120 g/hL de nutrientes (Enovit® e Fermolplus H2S free®).

3.3.2. Destilação

Na Tabela 7 podemos verificar os resultados obtidos a partir do processo de destilação, essencialmente a fração comercial do destilado denominada de “coração” que é feita através de “cortes” durante a destilação para obter o intervalo desejado de graduação alcoólica para um produto final de qualidade.

Tabela 7 - Resultado da destilação

	Volume inicial do fermentado (mL)	Volume final do fermentado (mL)	Volume de destilado (mL)		
			Cabeça mL/%vol.	Coração mL/%vol.	Cauda mL/%vol.
A1	8800	7400	18/60	480/41,6	500/25
A2	8500	6600	20/64	563/44,2	460/25
B1	8900	7000	20/59	430/43,4	460/25
B2	9000	7000	18/60	370/42,2	350/25
C1	8200	6000	25/80	1380/53,6	130/25
C2	8200	6000	27/78	1380/53,2	90/25

Os fermentadores D não foram destilados, uma vez que não alcançaram os parâmetros que pretendíamos para o estudo.

Segundo o Regulamento CE nº 110/2008 o título alcoométrico volúmico é a razão entre o volume de álcool puro contido em determinado produto à temperatura de 20°C e o volume total do produto à mesma temperatura. Dessa forma, fez-se a correção do grau alcoólico dos produtos da destilação para os 20 °C quando necessário, utilizando a consulta da tabela constante no Anexo I.

Como era esperado, os fermentadores C1 e C2, com maior volume alcoólico do mosto, foram, consequentemente os que resultaram num maior volume de coração.

Segundo Regulamento (CE) nº 110/2008 o título alcoométrico volúmico mínimo da aguardente de mel é de 35 %. Para obter o volume alcoólico pretendido é permitida a utilização de água, tal como descrita no mesmo regulamento “Na elaboração de bebidas espirituosas, é autorizada a adição de água, desde que a qualidade da água respeite as disposições da Directiva 80/777/CEE do Conselho, de 15 de Julho de 1980, relativa à aproximação das legislações dos Estados-Membros respeitantes à exploração e à comercialização de águas minerais naturais (3), e da Directiva 98/83/CE do Conselho, de 3 de Novembro de 1998, relativa à qualidade da água destinada ao consumo humano (4), e desde que essa adição não altere a natureza do produto.”.

As aguardentes A2, B1 e C2 foram selecionadas para análise da sua composição volátil, utilizando-se a técnica de cromatografia em fase gasosa realizada no Laboratório de Enologia do INIAV em Dois Portos (Torres Vedras) foram quantificados dez compostos voláteis que legalmente têm de ser controlados numa aguardente de acordo com o

Decreto-Lei n.º 3/74. Foram então avaliadas a composição volátil de algumas amostras da aguardente de mel (A2, B1 e C2) no que se refere ao teor de etanal, acetato de etilo, metanol e os álcoois superiores (1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 2-metil-1-propanol, 2-propeno-1-ol e 2+3-metil-1-butanol).

Tabela 8 - Resultados das análises da aguardente de mel

Tabela 8 - Resultados das análises da aguardente de mel

* Etanal (acetaldeído); 2-metil-1-propanol (isobutanol); 2-propeno-1-ol (alc. alílico); 2+3-metil-1-butanol (Isoamílicos)

Para além do etanol, os compostos voláteis mais abundantes na maioria das bebidas são os álcoois superiores, o acetato de etilo em conjunto com acetaldeído e o metanol. Os álcoois superiores, o acetato de etilo e o acetaldeído são principalmente resultantes do metabolismo microbiano ocorrido durante a fermentação alcoólica e o metanol resulta da degradação enzimática das pectinas presentes nas matérias-primas

	TAV (% vol.)	Massa Volumica	pH	g/hL AP								
				Etanal	Acetato Etilo	Metanol	2-Butanol	Propanol	2-metil-1- propanol	2-propeno- 1-ol	1-butanol	2+3-metil- 1-butanol
A2 _{cabeças}	59,7	0,9098		18,1	555,5	0,00	0,0	36,6	132,39	0,00	0,00	229,07
A2 _{coração}	44,5	0,9404	4,08	20,8	118,6	0,09	0,0	25,2	65,05	0,00	0,00	111,95
A2 _{caudas}	26,3	0,9666	3,73	13,5	21,1	0,00	0,0	15,9	14,19	0,00	0,00	22,12
B1 _{cabeças}	56,5	0,9168		205,7	773,0	0,00	0,0	40,7	30,30	0,00	0,75	164,88
B1 _{coração}	42,9	0,9432	3,90	147,0	250,5	0,00	0,0	35,1	19,68	0,00	0,55	107,77
B1 _{caudas}	26,1	0,9668	3,55	51,9	45,9	0,00	0,0	28,1	6,54	0,00	0,00	35,62
C2 _{cabeças}	71,0	0,8831	5,47	34,7	262,8	0,00	0,0	17,5	33,28	0,00	0,64	203,09
C2 _{coração}	53,1	0,9239	4,41	20,1	56,0	0,00	0,0	14,2	17,87	0,00	0,00	120,16
C2 _{caudas}	30,2	0,9619	3,83	3,4	11,6	0,00	0,0	8,6	2,50	0,00	0,00	13,81

usadas na fermentação. A identificação e quantificação dos compostos voláteis que constituem as bebidas alcoólicas são de extrema importância na sua caracterização sensorial bem como na deteção da ocorrência de fraudes e anomalias no processo de fabrico das bebidas (Anjos *et al.*, 2016).

A quantificação foi realizada por cromatografia gás-líquido de alta resolução (CGLAR), de acordo com a NP 3263 (CT83, 1990). Esta metodologia foi descrita e validada para aguardentes vínicas e bagaceiras por Luís *et al* (2011).

O teor alcoólico das aguardentes analisadas situa-se em 42,9 % (B1_{coração}), 44,5 % vol.(A2_{coração}) e os 53,1 % vol. (C2_{coração}), todos acima do mínimo exigido pelo Regulamento (CE) nº 110/2008.

Os valores de metanol observados situam-se todos abaixo do valor estipulado pela legislação de 30 g/hL A.P.. Este resultado é desejável visto que o metanol é altamente prejudicial à saúde (Cardoso, 2013).

O etanal é um composto característico de um cheiro muito intenso que existe em maior quantidade na primeira fração do destilado, a cabeça. Duas amostras apresentaram um valor mais elevado desse composto, B1_{cabeça} com 205,7 g/hL A.P. e B1_{coração} com 147,0 g/hL A.P.. Este elevado valor de etanal na fração coração pode indicar uma má manipulação no momento de separar as frações. O etanal (acetaldeído) aumenta consideravelmente com a oxidação do álcool (etanol), isto é, quando a massa em fermentação ou já depois de terminar a fermentação, entra em contacto com o oxigénio do ar. O etanal, devido à sua rápida formação mesmo em pequenos períodos de espera em contato com o ar quando a massa já fermentada aguarda para entrar no destilador, precisa de mais atenção para evitar a formação desse composto (Galego, 2014).

O acetato de etilo está presente em concentrações mais elevadas em 4 amostras, principalmente nas frações cabeça das amostras. Este composto tem origem no metabolismo microbiano da fermentação, também pode ser potenciado pelas reações de esterificação favorecidas pela presença de oxigénio (Anjos *et al.*, 2016).

Os álcoois superiores caracterizam um grupo importante dos álcoois presentes nas aguardentes, sendo maioritariamente produtos secundários do metabolismo das leveduras responsáveis pela fermentação. Os valores encontrados variam entre 0,0 e 229,07 g/hL A.P. Teores de álcoois superiores maiores de 350 g/hL A.P., acima do limite máximo permitido pela legislação, tornam as aguardentes pouco apreciadas (deixam uma sensação na boca demasiado forte) (Bovo *et al.*, 2012).

Segundo Giudici *et al.* (1990), a produção de álcoois superiores parece ser uma característica das leveduras em geral, e as quantidades produzidas variam com as condições de fermentação, com o género, espécie, e provavelmente com a estirpe utilizada.

3.3.3. Licor Melosa

3.3.3.1. Análise Sensorial

A avaliação sensorial consistiu num teste de ordenação realizado com um grupo de 37 provadores não treinados mas com alguma experiência em análise sensorial, possuíam idade compreendida entre os 19 e os 52 anos, com uma média de idade de 23 anos, sendo 68 % do género feminino e 32 % do género masculino.

As amostras de melosa com aguardente vínica, melosa com aguardente de água-mel e melosa com álcool alimentar, foram servidas aleatoriamente aos provadores em copos de plásticos, com quantidades padronizadas e codificadas com 3 dígitos. Foi

fornecida água para limpeza do palato entre a avaliação das amostras. O modelo de ficha de prova que foi utilizado encontra-se no anexo III.

Os resultados obtidos pelos provadores foram codificados de acordo com a ordem e organizados (Anexo II). Comparando a soma das ordens é possível fazer uma estimativa das diferenças entre as amostras.

Como as amostras não tinham uma ordem pré determinada, utilizou-se o Teste de Friedman para a análise estatística dos resultados do odor e sabor da melosa. Calculou-se o valor de Friedman utilizando a Equação 1 (ponto 1.5.3.2.).

O valor de Fr calculado foi comparado com os valores críticos apresentados na Tabela 2 (ponto 1.5.3.2.), para um número de amostras de $k = 3$, para um número de provadores $N=37 (\infty)$ e para um nível de significância de 10%, obtemos um valor crítico de 4,61. Dado que o valor calculado do odor (2,32) e o valor calculado do sabor (4,27) são inferiores ao valor tabelado, pode-se concluir que não existem diferenças significativas entre as amostras neste nível de significância, apesar das diferenças nas somas das ordens encontradas em ambos os aspetos estudados.

3.4. Conclusão

O teor de sólidos solúveis totais que permitiu obter melhores resultados para o preparo do mosto de água-mel foi o de 25 °Brix. Ainda foi possível verificar que com o aumento da concentração de leveduras (130 g/hL de Fermol Complet Killer®) e nutrientes (90 g/hL de Enovit® no início e 30 g/hL de Fermolplus H₂S free® quando a massa volúmica atingir entre 1030-1020 g/L) ocorreu maior produção de etanol nos fermentadores.

Os fermentadores C, que possuíam as características acima, foram os que apresentaram melhores resultados no destilado, tanto rendimento como qualidade físico-química do produto.

Em relação a Melosa, como não se observou diferença entre as amostras testadas para as diferentes aguardentes utilizadas (aguardente vínica, aguardente de água-mel e álcool alimentar), utilizar a aguardente de água-mel é uma alternativa favorável para redução do custo de produção do licor, e rentabilizar um subproduto da apicultura.

3.5. Referência Bibliográfica

Anjos, O., & Caldeira, I. (2016). Caracterização do perfil de compostos voláteis em aguardentes de mel. In *IV Congresso Ibérico de Apicultura* (p. 51).

Belitz, H. D. (2012). *Química de los alimentos 3ª ed.* (Acribia Ed).

Bovo, B., Nardi, T., Fontana, F., Carlot, M., Giacomini, A., & Corich, V. (2012). Acidification of grape marc for alcoholic beverage production: Effects on

indigenous microflora and aroma profile after distillation. *International Journal of Food Microbiology*, 152(3), 100–106.

Cardoso, M. das G. (2013). *Produção de Aguardente de Cana 3ª Edição*.

Decreto Lei n 257 1987 de 25 de Junho., 2429. Diário da República n.º 143/1987, Série I de 1987-06-25.

Galego, L. (2014). Evolução da qualidade da aguardente de medronho na região. In *Jornadas do Medronho do Algarve* (p. 6). Faro.

Giudici, P., Romano, P., & Zambonelli, C. (1990). A biometric study of higher alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Canadian Journal of Microbiology*, 36(1), 61–64.

Gomes, T. M. D. C. (2010). Produção de hidromel: Efeito das condições de fermentação, 1–74.

Luís, A. C. P. M. N., Mota, D., Anjos, O., & Caldeira, I. (2011). Single-laboratory validation of determination of acetaldehyde, ethyl acetate, methanol and fusel alcohols in wine spirits, brandies and grape marc spirits using GC-FID. *Ciência e Técnica Vitivinícola*, 26(2), 69–76.

O'Connor-Cox, E. S. C., & Ingledew, W. M. (1991). Alleviation of the effects of nitrogen limitation in high gravity worts through increased inoculation rates. *Journal of Industrial Microbiology*, 7(2), 89–95.

Pereira, A. P. R. (2008). Caracterização de Mel com vista à Produção de Hidromel. *Instituto Politécnico de Bragança*, 1–68. Retrieved from [https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/1103/1/Tese_mestrado - Ana Paula Pereira.pdf](https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/1103/1/Tese_mestrado_-_Ana_Paula_Pereira.pdf)

Regulamento (CE) N.º 110/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho de 15 de Janeiro de 2008. *Jornal Oficial Da União Europeia*, 16–54.

Teixeira, L. J. Q., Ramos, A. M., Chaves, J. B. P., & Stringheta, P. C. (2007). Testes de aceitabilidade de licores de banana. *Revista Brasileira de Agrociências*, 13(2), 205–209.

Volpe, P. L. O. (1997). Estudo da fermentação alcoólica de soluções diluídas de diferentes açúcares utilizando microcalorimetria de fluxo. *Química Nova*, 20(5), 528–534. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421997000500013>

ANEXOS

Anexo I - Correção do grau alcoólico de aguardentes

			Títulos alcoométricos aparentes (% vol.) a t °C											
			40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51
Temperatura em °C	8	Adicionar	4,76	4,72	4,68	4,65	4,61	4,57	4,53	4,49	4,46	4,42	4,38	4,35
	9		4,37	4,33	4,30	4,26	4,23	4,19	4,16	4,12	4,09	4,06	4,03	4,00
	10		3,98	3,95	3,91	3,88	3,85	3,82	3,79	3,76	3,73	3,70	3,67	3,64
	11		3,58	3,56	3,53	3,50	3,47	3,44	3,41	3,39	3,36	3,34	3,31	3,28
	12		3,19	3,16	3,14	3,11	3,09	3,06	3,04	3,02	2,99	2,97	2,94	2,92
	13		2,79	2,77	2,74	2,72	2,70	2,68	2,66	2,64	2,62	2,60	2,58	2,56
	14		2,40	2,38	2,35	2,34	2,32	2,30	2,28	2,27	2,25	2,24	2,22	2,20
	15		2,00	1,98	1,96	1,95	1,93	1,92	1,91	1,89	1,88	1,87	1,85	1,84
	16		1,60	1,58	1,57	1,56	1,54	1,54	1,53	1,51	1,50	1,50	1,48	1,47
	17		1,20	1,19	1,18	1,17	1,16	1,16	1,15	1,14	1,13	1,13	1,11	1,11
	18		0,80	0,79	0,79	0,78	0,77	0,77	0,77	0,76	0,75	0,75	0,74	0,74
	19		0,40	0,40	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,38	0,38	0,38	0,37	0,37
	20													
	21	Subtrair	0,40	0,40	0,40	0,40	0,39	0,39	0,39	0,38	0,38	0,38	0,37	0,37
	22		0,80	0,80	0,80	0,79	0,78	0,78	0,77	0,76	0,76	0,75	0,75	0,74
	23		1,20	1,20	1,19	1,18	1,18	1,16	1,16	1,15	1,14	1,13	1,12	1,12
	24		1,60	1,60	1,59	1,58	1,57	1,55	1,55	1,53	1,52	1,51	1,50	1,49
	25		2,00	1,99	1,99	1,98	1,96	1,95	1,93	1,92	1,90	1,89	1,88	1,87
	26		2,40	2,39	2,38	2,37	2,36	2,34	2,32	2,30	2,29	2,27	2,26	2,24
	27		2,81	2,80	2,78	2,77	2,75	2,73	2,71	2,69	2,67	2,65	2,64	2,62
	28		3,21	3,20	3,18	3,17	3,15	3,12	3,11	3,08	3,06	3,04	3,02	2,99
	29		3,62	3,60	3,58	3,57	3,55	3,52	3,50	3,47	3,45	3,42	3,40	3,37
	30		4,02	4,00	3,98	3,96	3,94	3,91	3,89	3,86	3,83	3,80	3,78	3,76
	31		4,43	4,41	4,39	4,36	4,34	4,31	4,28	4,25	4,22	4,19	4,16	4,14
	32		4,83	4,81	4,79	4,77	4,74	4,71	4,68	4,64	4,61	4,58	4,55	4,52
	33		5,24	5,22	5,20	5,17	5,14	5,10	5,07	5,03	5,00	4,96	4,93	4,90
	34		5,64	5,62	5,60	5,57	5,53	5,49	5,47	5,43	5,39	5,35	5,32	5,28
	35		6,05	6,03	6,00	5,97	5,93	5,90	5,86	5,82	5,78	5,74	5,71	5,67

			Títulos alcoométricos aparentes (% vol.) a t °C											
			50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
Temperatura em °C	8	Adicionar	4,38	4,35	4,32	4,29	4,26	4,23	4,20	4,17	4,14	4,12	4,09	4,06
	9		4,03	4,00	3,97	3,94	3,91	3,89	3,86	3,83	3,80	3,78	3,76	3,73
	10		3,67	3,64	3,62	3,59	3,56	3,54	3,51	3,49	3,47	3,45	3,42	3,40
	11		3,31	3,28	3,26	3,23	3,21	3,19	3,17	3,14	3,13	3,11	3,09	3,06
	12		2,94	2,92	2,90	2,88	2,86	2,84	2,82	2,80	2,78	2,77	2,75	2,73
	13		2,58	2,56	2,55	2,53	2,51	2,49	2,47	2,46	2,44	2,43	2,41	2,39
	14		2,22	2,20	2,18	2,17	2,16	2,14	2,12	2,11	2,09	2,08	2,07	2,06
	15		1,85	1,84	1,82	1,81	1,80	1,78	1,77	1,76	1,75	1,74	1,73	1,72
	16		1,48	1,47	1,46	1,45	1,44	1,43	1,42	1,41	1,40	1,39	1,39	1,38
	17		1,11	1,11	1,10	1,09	1,09	1,08	1,07	1,06	1,05	1,05	1,04	1,04
	18		0,74	0,74	0,73	0,73	0,73	0,72	0,71	0,71	0,70	0,70	0,70	0,69
	19		0,37	0,37	0,37	0,36	0,36	0,36	0,36	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
	20													
	21	Subtrair	0,37	0,37	0,37	0,37	0,36	0,36	0,36	0,36	0,35	0,35	0,35	0,35
	22		0,75	0,74	0,74	0,73	0,72	0,72	0,72	0,72	0,71	0,70	0,70	0,70
	23		1,12	1,12	1,11	1,10	1,09	1,08	1,08	1,07	1,07	1,06	1,05	1,04
	24		1,50	1,49	1,48	1,47	1,46	1,45	1,44	1,43	1,43	1,41	1,40	1,40
	25		1,88	1,87	1,85	1,84	1,83	1,81	1,80	1,79	1,78	1,77	1,76	1,75
	26		2,26	2,24	2,23	2,21	2,20	2,18	2,17	2,16	2,14	2,13	2,11	2,10
	27		2,64	2,62	2,60	2,59	2,57	2,55	2,53	2,52	2,50	2,49	2,47	2,46
	28		3,02	2,99	2,98	2,96	2,94	2,92	2,90	2,88	2,86	2,84	2,83	2,82
	29		3,40	3,37	3,35	3,34	3,31	3,29	3,27	3,25	3,23	3,21	3,19	3,17
	30		3,78	3,76	3,73	3,71	3,68	3,66	3,64	3,62	3,60	3,57	3,55	3,53
	31		4,16	4,14	4,11	4,09	4,06	4,03	4,00	3,98	3,96	3,94	3,91	3,89
	32		4,55	4,52	4,49	4,46	4,43	4,40	4,38	4,35	4,33	4,30	4,28	4,25
	33		4,93	4,90	4,87	4,84	4,81	4,78	4,75	4,72	4,69	4,67	4,64	4,61
	34	5,32	5,28	5,25	5,22	5,18	5,15	5,13	5,09	5,06	5,03	5,00	4,97	
	35	5,71	5,67	5,63	5,60	5,56	5,53	5,50	5,46	5,43	5,40	5,37	5,34	

			Títulos alcoométricos aparentes (% vol.) a t °C											
			60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
Temperatura em °C	8	Adicionar	4,09	4,06	4,04	4,01	3,98	3,95	3,93	3,90	3,87	3,84	3,81	3,78
	9		3,76	3,73	3,71	3,68	3,66	3,63	3,61	3,58	3,55	3,53	3,50	3,48
	10		3,42	3,40	3,38	3,35	3,33	3,31	3,28	3,26	3,24	3,21	3,19	3,17
	11		3,09	3,06	3,05	3,03	3,01	2,99	2,97	2,94	2,92	2,90	2,88	2,86
	12		2,75	2,73	2,71	2,69	2,68	2,66	2,64	2,62	2,60	2,58	2,56	2,54
	13		2,41	2,39	2,38	2,36	2,35	2,33	2,31	2,30	2,28	2,26	2,24	2,23
	14		2,07	2,06	2,04	2,03	2,02	2,00	1,99	1,97	1,96	1,95	1,93	1,92
	15		1,73	1,72	1,71	1,70	1,69	1,67	1,66	1,65	1,64	1,63	1,61	1,60
	16		1,39	1,38	1,37	1,36	1,35	1,34	1,33	1,32	1,31	1,30	1,29	1,28
	17		1,04	1,04	1,03	1,02	1,01	1,01	1,00	0,99	0,98	0,98	0,97	0,96
	18		0,70	0,69	0,68	0,68	0,68	0,67	0,67	0,66	0,65	0,65	0,65	0,64
	19		0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,32
	20													
	21	Subtrair	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,33	0,33	0,32
	22		0,70	0,70	0,69	0,69	0,68	0,68	0,68	0,67	0,67	0,66	0,66	0,65
	23		1,05	1,04	1,04	1,03	1,02	1,02	1,01	1,00	1,00	0,99	0,98	0,97
	24		1,40	1,40	1,39	1,38	1,37	1,36	1,35	1,34	1,34	1,33	1,31	1,30
	25		1,76	1,75	1,74	1,73	1,72	1,71	1,69	1,68	1,67	1,66	1,65	1,63
	26		2,11	2,10	2,09	2,08	2,07	2,05	2,04	2,02	2,01	1,99	1,98	1,96
	27		2,47	2,46	2,44	2,43	2,41	2,40	2,38	2,37	2,35	2,33	2,31	2,30
	28		2,83	2,82	2,80	2,78	2,76	2,74	2,73	2,71	2,69	2,67	2,65	2,63
	29		3,19	3,17	3,15	3,13	3,11	3,09	3,07	3,06	3,04	3,01	2,99	2,97
	30		3,55	3,53	3,51	3,49	3,47	3,45	3,42	3,40	3,38	3,36	3,33	3,31
	31		3,91	3,89	3,87	3,85	3,82	3,80	3,77	3,75	3,73	3,70	3,67	3,64
	32		4,28	4,25	4,23	4,20	4,18	4,15	4,12	4,09	4,07	4,04	4,01	3,98
	33		4,64	4,61	4,59	4,56	4,53	4,51	4,48	4,45	4,42	4,39	4,36	4,33
	34	5,00	4,97	4,95	4,92	4,89	4,86	4,83	4,80	4,76	4,73	4,70	4,67	
	35	5,37	5,34	5,31	5,28	5,25	5,22	5,18	5,15	5,12	5,08	5,05	5,01	

Anexo II – Resultados da análise sensorial

ODOR				
Provador	Amostras			
	Vínica	Álcool	Aguardente de mel	
	630	522	126	
1	1	2	3	
2	2	3	1	
3	3	2	1	
4	3	1	2	
5	2	3	1	
6	3	2	1	
7	2	1	3	
8	2	1	3	
9	3	2	1	
10	3	1	2	
11	2	3	1	
12	1	2	3	
13	3	2	1	
14	2	3	1	
15	1	2	3	
16	3	1	2	
17	3	2	1	
18	3	2	1	
19	1	3	2	
20	3	2	1	
21	1	2	3	
22	1	3	2	
23	1	2	3	
24	2	1	3	
25	2	3	1	
26	3	1	2	
27	3	2	1	
28	2	1	3	
29	2	3	1	
30	1	2	3	
31	3	1	2	
32	3	2	1	
33	3	1	2	
34	1	3	2	
35	2	3	1	
36	1	3	2	
37	3	2	1	
R	80	75	67	Soma dos quadrados 16514
R ²	6400	5625	4489	

SABOR				
Provador	Amostras			
	Vínica	Álcool	Aguardente de mel	
	630	522	126	
1	1	2	3	
2	2	3	1	
3	1	3	2	
4	1	3	2	
5	1	3	2	
6	3	2	1	
7	3	2	1	
8	3	1	2	
9	3	1	2	
10	3	2	1	
11	1	3	2	
12	1	3	2	
13	3	2	1	
14	3	2	1	
15	3	1	2	
16	3	2	1	
17	3	2	1	
18	2	3	1	
19	1	2	3	
20	2	3	1	
21	2	3	1	
22	3	1	2	
23	2	1	3	
24	1	3	2	
25	3	1	2	
26	1	2	3	
27	2	3	1	
28	2	1	3	
29	2	3	1	
30	1	2	3	
31	2	1	3	
32	2	3	1	
33	2	1	3	
34	2	3	1	
35	2	3	1	
36	3	2	1	
37	2	3	1	
R	77	81	64	Soma dos quadrados 16586
R ²	5929	6561	4096	

Anexo III – Ficha da análise sensorial

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____			
Ordene as amostras de licor que lhe são apresentadas por ordem crescente de preferência em relação ao <u>cheiro</u> .			
Mais preferida	_____	_____	Menos preferida
Ordene as amostras de licor que lhe são apresentadas por ordem crescente de preferência em relação ao <u>sabor</u> .			
Mais preferida	_____	_____	Menos preferida
Você compraria esse produto: Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>			